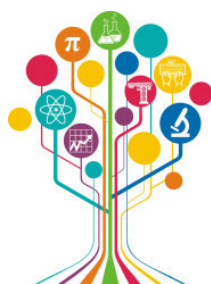


МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК

Том 4. Биология и фундаментальная медицина

Сборник научных трудов

XVIII Международной конференции студентов, аспирантов
и молодых ученых

27–30 апреля 2021 г.

PROSPECTS OF FUNDAMENTAL SCIENCES DEVELOPMENT

Volume 4. Biology and fundamental medicine

Abstracts

XVIII International Conference of students, graduate students
and young scientists

April 27–30, 2021



Национальный
исследовательский
**Томский
государственный
университет**



Томск 2021

УДК 501:004(063)

ББК 72:32.81л0

П27

- Перспективы развития фундаментальных наук** : сборник трудов XVIII
П27 Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых (Томск, 27–30 апреля 2021 г.). В 7 томах. Том 4. Биология и фундаментальная медицина / под ред. И.А. Курзиной, Г.А. Вороновой. – Томск : Изд-во Томского политехнического университета, 2021. – 111 с.

ISBN 978-5-4387-1014-1 (т. 4)

ISBN 978-5-4387-1010-3

Сборник содержит труды участников XVIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Перспективы развития фундаментальных наук», представленные на секции «Биология и фундаментальная медицина».

Предназначен для студентов, аспирантов, молодых ученых и преподавателей, специализирующихся в области анатомии и физиологии, иммунологии, неврологии и психиатрии, клеточной биологии и гистологии, генетики, биохимии и молекулярной биологии, микробиологии и вирусологии, биофизики, биотехнологии, биоинженерии, фармакологии и фармакогнозии, кибернетики, биоинформатики, а также биоматериалов: исследований *in vitro* и *in vivo*.

УДК 501:004(063)

ББК 72:32.81л0

Редакционная коллегия

И.А. Курзина, доктор физико-математических наук, доцент;

Г.А. Воронова, кандидат химических наук, доцент;

С.А. Поробова.

ISBN 978-5-4387-1014-1 (т. 4)

ISBN 978-5-4387-1010-3

© ФГАОУ ВО НИ ТПУ, 2021



Группа Компаний ЭФКО – одна из крупнейших компаний пищевой промышленности России, вертикально-интегрированный производитель жиров специального назначения, используемых в кондитерской, хлебопекарной и других отраслях пищевой промышленности, и крупнейший переработчик отечественных маслосемян. «ЭФКО» – ведущий экспортер подсолнечного масла; продукция компании поставляется в 50 стран мира. «ЭФКО» – производитель продуктов питания – майонезов, растительных масел, кетчупов и соусов, йогуртов и молока в России, под такими широко известными брендами, как «Слобода», Altero и Violio.

Главная опора в развитии компании – это инновации. Нам интересны следующие технологические направления:

- Биотехнологии масел и жиров
- Переработка масличных
- Растительное мясо
- Сахарозаменители (редкие сахара, сладкие белки)
- Ферментация шрота
- Эффективное молочное животноводство



Инновации – философия бизнеса ГК «ЭФКО»

Основная инновационная активность развивается в следующих ключевых компаниях Группы:



Ключевой центр исследований и разработок (R&D) ГК «ЭФКО»; он оснащен высокотехнологичным оборудованием, позволяющим проводить полный цикл исследований: от лабораторных до промышленных. На территории создана инфраструктура для обучения, комфортного проживания и досуга (научно-образовательный центр, рестораны, горнолыжный комплекс, детский сад и школа для детей сотрудников)



Центр поиска новых идей и точка входа для стартапов и внешних партнеров в контур открытых инноваций ГК «ЭФКО»



Венчурный фонд, осуществляющий инвестиции в высокотехнологические стартапы пищевой отрасли по всему миру. «Топливо для роста» – это именно то, что мы даем компаниям: инвестиции, опыт и сеть контактов

Самая главная причина побед ГК «ЭФКО» – это люди, работающие в компании. Реализация любого, даже самого перспективного проекта, была бы невозможна без увлеченных специалистов, поэтому их поиск – наша первоочередная задача. Мы активно ищем увлеченных специалистов для реализации масштабных проектов, способных изменить пищевую индустрию! Сделаем еду вкуснее, полезнее и доступнее вместе!



www.efko.ru



[efko_innovations](https://www.instagram.com/efko_innovations)



[fuel4growth](https://www.facebook.com/fuel4growth)

Какие возможности и перспективы роста ГК «ЭФКО» предлагает молодым специалистам?

1. Производственная и научная практика в разных подразделениях компании, включая инновационный центр «Бирюч»
2. Трудоустройство и для профессионалов, и для начинающих специалистов
3. Включение в группу специалистов, работающих над перспективными инновационными проектами с международной кооперацией



Что мы предлагаем молодым талантам:

1. Программа гарантированного карьерного роста для сотрудников, которые готовы учиться, развиваться и расширять свой кругозор
2. Стартовая заработная плата от 60 тыс. руб. с перспективой роста
3. Бесплатное жилье в корпоративном многоквартирном доме (для сотрудников ИЦ «Бирюч»)
4. Бесплатное лечение в собственном лечебно-диагностическом центре

Кого мы ищем?

Мы ищем людей, кто по своим личностным характеристикам готов воспринимать жизнь как увлекательное приключение, и кто готов вместе с нами менять пищевую индустрию.

Мы активно ищем специалистов, которые могут разрабатывать и создавать новые продукты (биотехнологов, генных инженеров, биохимиков, микробиологов, биоинформатиков), а также тех, кто будет помогать выстраивать новые направления бизнеса (аналитиков, менеджеров проектов, инженеров, дизайнеров, бизнес-администраторов и многих других)



Если Вы хотите присоединиться к нашей дружной команде, то пишите нам на startup@efko.ru с темой «работа мечты»



www.efko.ru



[efko_innovations](https://www.instagram.com/efko_innovations)



[fuel4growth](https://www.facebook.com/fuel4growth)

Торговая марка «Органика» – это современные технологии, надежность и качество, проверенное временем.

АО «Органика» является производителем лекарственных средств с 1962 года. Сегодня – это современный комплекс полного производственного цикла от субстанций до готовых лекарственных препаратов 20 фармакотерапевтических групп, половина из которых входит в Перечень жизненно-необходимых и важнейших лекарственных средств Министерства здравоохранения РФ.

АО «Органика» производит следующие лекарственные средства:

- стерильные лекарственные препараты:
 - препараты, содержащие сильнодействующие вещества: растворы для инъекций;
 - препараты, не требующие специального выделения в отдельное производство: растворы для инъекций;
- нестерильные лекарственные препараты:
 - препараты, содержащие сильнодействующие вещества: таблетки непокрытые, таблетки покрытые оболочкой;
 - препараты, не требующие специального выделения в отдельное производство: капсулы, таблетки непокрытые, таблетки покрытые оболочкой;
- фармацевтические субстанции:
 - фармацевтические субстанции, получаемые методами химического синтеза;
 - фармацевтические субстанции, получаемые методами выделения из химического сырья.

Также, на стадии разработки находятся инновационные препараты в нескольких лекарственных формах.

АО «Органика» является активным участником системы импортозамещения, обеспечивая доступность фармацевтической помощи для граждан страны. За 10 лет работы производственный портфель предприятия пополнился 17 наименованиями лекарственных препаратов, у 2 наименований был расширен диапазон дозировок. За период 2017-2020 гг. было проведено 9 рандомизированных клинических исследований, показавших клиническую биоэквивалентность производимых заводом препаратов с референтными.

На предприятии идет непрерывное обновление производственных мощностей и введение в работу новых современных технологических линий. Ориентируясь на потребителя, АО «Органика» определяет основную цель своей деятельности в области качества: выпуск конкурентоспособной продукции, удовлетворяющей требованиям и ожиданиям наших потребителей, динамичное развитие предприятия.

Для реализации этих целей и задач нам необходимы новые кадры, новые мысли, новые люди.

СОДЕРЖАНИЕ

LIPOSOMAL CARRIER FOR ANTIOXIDANTS TO PROTECT AGAINST ROS В. Pajaziti, I.A. Kurzina, L. Heinrich	7
РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИЗУЧЕНИЯ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОТОТИПОВ ТВЕРДЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ С ФУНКЦИЕЙ КОНТРОЛИРУЕМОГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ А.В. Болтовская, Д.А. Федоришин, А.А. Волохова	10
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ МУЖСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ НИЗКИХ ДОЗ МЕТОТРЕКСАТА Е.А. Бохан	13
УЧАСТИЕ КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ИНФАРКТ-ЛИМИТИРУЮЩЕМ ЭФФЕКТЕ АДАПТАЦИИ К ХОЛОДУ Н.С. Воронков	16
ИЗУЧЕНИЕ РНК-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕЖДУ ГЛИЦИЛ-тРНК СИНТЕТАЗОЙ И ВИРУСНЫМ IRES ТИПА I Е.С. Виноградова, А.А. Танцура	19
РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА У БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО К.А. Гаптулбарова, Д.С. Долгашева, М.К. Ибрагимова	22
ПОРАЖЕНИЕ СЕНСОРНЫХ СИСТЕМ (ВКУС И ЗАПАХ) У БОЛЬНЫХ И КОНТАКТНЫХ COVID-19 ПРИ НАРУШЕНИИ ПРИМЕНЕНИЯ СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ А.А. Горбунов, К.В. Волна	25
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ КАК ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ СТРАТЕГИЯ СТИМУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ СПЕРМАТОГЕННОЙ ТКАНИ В.А. Григорьева	28
ИССЛЕДОВАНИЕ СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ ГЕНА PK3CA У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Д.С. Долгашева, К.А. Гаптулбарова, М.М. Цыганов	31
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЛИСТЬЕВ И ДРЕВЕСИНЫ ПАВЛОВНИИ Ю.Н. Зиновьева	34
ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПРОЦЕССЕ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ: СВЯЗЬ С ГЕМАТОГЕННЫМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ М.К. Ибрагимова, М.М. Цыганов	37
ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА НА СИНТЕЗ А-СИНУКЛЕИНА В КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ НЕЙРОБЛАСТОМЫ SH-SY5Y О.П. Иккерт, О.Я. Брикунова, В.А. Петров	40
ПОИСК ПРЕДСКАЗАТЕЛЬНЫХ МАРКЕРОВ ОТВЕТА ОПУХОЛИ НА ЛЕЧЕНИЕ ПЛАТИНОВЫМИ ПРЕПАРАТАМИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ТОЛСТОЙ КИШКИ И РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Е.О. Казакова, И.В. Ларионова, М.А. Ракина	43
ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ИНДИКАТОРЫ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА Л.А. Кост	46
НЕИНВАЗИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ НА МОДЕЛИ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА У КРЫС М.С. Кудабеева, А.А. Кисель	49
РОЛЬ цАМФ И РКС В РЕАЛИЗАЦИИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА В МОДЕЛИ СИНДРОМА ТАКОТСУБО У КРЫС Б.К. Курбатов, А.П. Никифоров	52
ПОЛИМЕРНЫЕ СЕГНЕТОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ЭФФЕКТОМ ДЛЯ ЗАЖИВЛЕНИЯ РАН И.В. Лукнев, Д.А. Гончарова	55

ОСОБЕННОСТИ ПЭТ-КТ КАРТИНЫ COVID-19 У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ О.А. Новицкая, К.А. Богатенков, Л.Ю. Трофимчук	58
ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИГУАНИДИНОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ ЭКТОПАРАЗИТАРНЫХ ИНВАЗИЙ У РЫБ О.С. Очиров, М.Н. Григорьева, В.О. Окладникова	61
НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭКСПРЕССИВНОЙ РЕЧИ У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА А.В. Пустовая	64
ВЛИЯНИЕ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ В КО-КУЛЬТУРЕ С МАКРОФАГАМИ М.А. Ракина, А.Д. Казакова, А.А. Евтина	67
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ ЧЕЛОВЕКА Г.К. Распопин, Д.Р. Макашев	70
УРОЛИТ КАК НОСИТЕЛЬ ИНФОРМАЦИИ ОБ ОБРАЗЕ ЖИЗНИ ПАЦИЕНТА С МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ – ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДАМИ: РФА, ИК-СПЕКТРОСКОПИЯ И АЭС-ИСП Е.А. Сабанцева, А.Д. Александрова	73
ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ПЕЧЕНИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ НОВОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО АГЕНТА КАМФЕЦИНА О.П. Сальникова	76
ФАКТОРЫ РИСКА НАРУШЕНИЯ ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ-МЛАДЕНЦЕВ, РОДИВШИХСЯ ПОСРЕДСТВОМ ЭКО А.В. Силаева, О.В. Терехина, С.Б. Лещинская	79
СОЗДАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПЛАЗМИД, КОДИРУЮЩИХ РНК-ГИДЫ, ДЛЯ CAS9- ОПОСРЕДОВАННОЙ АКТИВАЦИИ ЭКСПРЕССИИ ИНТЕГРИНА ALPHA V BETA 3 В КЛЕТКАХ Е.В.Сухинина	82
КОМПОЗИТНЫЕ СЕГНЕТОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ АГЕНТ, ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК РОТОВОЙ ПОЛОСТИ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ Т.С. Твердохлебова, А.Д. Коняева, А.Р. Коврижина	85
ВЗАИМОСВЯЗЬ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ КЛЕТОК МОНОЦИТАРНО- МАКРОФАГАЛЬНОГО РЯДА С РАЗЛИЧНЫМИ ВАРИАНТАМИ ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ ИЗМЕНЕНИЙ РЕСПИРАТОРНОГО ЭПИТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО А.А. Федоров	88
ВЛИЯНИЕ ПЛЕНОК ПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ НА ТЕЧЕНИЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ IN VIVO БУЛЛЕЗНОЙ КЕРАТОПАТИИ Е.О. Филиппова, А.Д. Журавлева, Н.М. Иванова	91
КАЛЛУСНАЯ КУЛЬТУРА HEDYSARUM ALPINUM L. ИСТОЧНИК ФЛАВОНОИДОВ М.В.Филонова, С. Кумар	94
МУТАЦИОННЫЙ ЛАНДШАФТ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЁГКОГО У БОЛЬНЫХ С ВЫСОКИМ РИСКОМ РЕЦИДИВИРОВАНИЯ А.А. Хозяинова, Т.С. Геращенко, Р.С. Воробьев	97
ВИРУС ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА ПРИ РАКЕ ГОРТАНИ: СВЯЗЬ С ЭФФЕКТОМ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОГНОЗОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ И.А. Цыденнова, М.М. Цыганов, М.К. Ибрагимова	100
ОСОБЕННОСТИ МУТАЦИОННОГО ПРОФИЛЯ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЁГКОГО С ВЫСОКИМ РИСКОМ ГЕМАТОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ А.А. Щеголева, Р.С. Воробьев, Е.О. Родионов	103
ДИСБАЛАНС ЭНДОЦИТОЗА В ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫХ МАКРОФАГАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ХИМИОТЕРАПИИ IN VITRO П.С. Ямщиков, И.В. Ларионова, Е.О. Казакова	106
MENTAL HEALTH OF THE POPULATION OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN UNDER PANDEMIC CONDITIONS: PSYCHOLOGICAL FEATURES AND RISK FACTORS Y. Yan	109

УДК 615

LIPOSOMAL CARRIER FOR ANTIOXIDANTS TO PROTECT AGAINST ROS

B. Pajaziti^{1,3}, I.A. Kurzina², L. Heinrich^{1,2,3}

¹University of Muenster, Institute of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, Germany, Muenster,
Schlossplatz 2, 48149

²National Research Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

³marcotech oHG, Germany, Muenster, Heisenberg str. 11, 48149

E-mail: betina.pajaziti@googlemail.com

ЛИПОСОМНЫЙ НОСИТЕЛЬ АНТИОКСИДАНТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ ОТ АФК

Б. Паязити^{1,3}, И.А. Курзина², Л. Хайнрих^{1,2}

¹Мюнстерский университет, Институт фармацевтической и медицинской химии,
Германия, Мюнстер, Шлёсплатц 2, 48149

²Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

³marcotech oHG, Германия, Мюнстер, Гейзенберг штрассе 11, 48149

E-mail: betina.pajaziti@googlemail.com

Аннотация. Лучевая терапия направлена на опухолевую ткань, но и здоровая ткань может быть частично повреждена. Вторично генерируемые реактивные формы кислорода (АФК) играют ключевую роль из-за их клеточной токсичности. Повязки, локально доставляющие антиоксиданты к коже или открытым тканям, разработаны для защиты здоровых тканей от повреждений, связанных с облучением. Липофильные антиоксиданты растворяли в воде с использованием липосом или применяли в виде ПЭГ-илированных антиоксидантов, образующих мицеллы. Оба состава имеют название наполненные наноконтейнеры. Оценены их размеры и коэффициенты диффузии. Фармакокинетическая модель была применена для моделирования профилей концентрации лекарственного средства в коже. Исследования *in vitro* токсичности клеток и воздействия облучения на фракции выживания клеток в HaCaT и MCF-7 показали, что под воздействием наноконтейнеров, наполненных антиоксидантами, токоτριенолы, содержащие фракцию, богатую γ -токоτριенолом, обеспечивают более высокую эффективность защиты от излучения для здоровых клеток, чем для раковых клеток.

Introduction. Radiotherapies using X- and gamma-ray are approved methods in cancer treatment. Besides the damage of DNA of tumor cells, radiotherapies effectuate also side effects to the healthy tissue, such as erythema, ulceration, chronic inflammation, or decelerated wound healing, with an increasing risk for chronic wounds [1, 2, 3]. The ionizing rays destroy by direct interaction with bio-macromolecules, such as proteins, lipids, DNA and RNA. Typical doses applied in radiotherapy of about 2 Gy impair cells or lead to mutation of the DNA by breaking the double-stranded or the single-stranded chains. Indirect interaction within the cytoplasm and interstitium creates reactive chemical species, which in turn interact with critical macromolecules. Free radical hydrogen and hydroxyl molecules (*reactive oxygen species*, ROS), as well as nitrogen oxide radicals (*reactive nitrogen species*, RNS) achieve a high cell toxicity. In contrast to the systemic administration of

antioxidants, the local antioxidant delivery to the irradiated tissue promises an improved protecting efficacy against the radio-generated ROS [2].

The investigations and the development are targeted to antioxidant delivering overlays to protect healthy tissue against irradiation associated damages during intraoperative radiation therapy (IORT) and elevated ROS in chronic wounds. In particular, the *in vitro* administration of drug loaded micelles and liposomes to healthy and cancer cells was tested. A simple dermal and tissue drug penetration model using a FRANZ diffusion cell [6] was evaluated to simulate the multilayered structure of the skin and tissues.

Methods and Materials. Vitamin E based antioxidants provide a promising potential scavenging free radicals [4, 5]. Therefore, α -tocopherol (TO) and γ -tocotrienol rich fraction (TRF) were selected as liposome formulations prepared from cholesterol and phosphatidylcholine according the film method. The lipophilic antioxidants are incorporated within the bilayers of the liposomes which act as nanocontainers in aqueous PBS pH 7.4. Alternatively, the amphiphilic α -tocopheryl ethylene glycol 1000 succinate (TPGS) forms in PBS micelles of about 20 nm. Zeta-potentials were measured and the size distributions of micelles and liposomes were estimated by discounted light scattering (DLS, *zetasizer 3000*, MALVERN). The diffusion coefficients were measured using a 10 mL FRANZ diffusion cell applying membranes of 0.45 μm and 2 μm pore sizes [6]. Simulations of the tissue penetration of micelles and liposomes were executed using the software MATLAB (*Mathworks, R2014b*). Toxicity and radioprotective potential of the selected antioxidants in nanocontainers were studied *in vitro*, using the human fibroblast cell line HaCaT and in the breast cancer cell line MCF-7. The nanocontainers loaded with the different antioxidants were added to the cell cultures. The cell cultures were irradiated with X-ray (2 Gy) using the electron beam accelerator (*VARIAN trueBeam T02*). The survival and proliferation of the two cell lines were determined by colony formation assays. Cell culture experiments were done at least three times (each in triplicate). Mean value and standard deviation were calculated. Significance was determined using t-test.

Results and Conclusion. The average diameters of liposomes increase from 120 nm to 230 nm changing from water to PBS, TPGS micelles from 10 nm to 13 nm. Loading liposomes with TO or TRF enlarges the average diameters from 230 to 250 nm, the TPGS micelles from 13 nm to 20 nm. The diffusion coefficients of TPGS in PBS estimated in the FRANZ diffusion cell was measured to $4,9 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$. The diffusion coefficient of the loaded liposomes in PBS pH 7.4 was evaluated at $5 \cdot 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$. The penetration of the antioxidant loaded nanocontainers across tissue and skin was simulated applying the measured diffusion coefficients and the evaluated permeation coefficients. TO and TRF in liposomes (100 $\mu\text{mol/L}$) did not show any cell toxicity. D- α -tocopherol and the γ -tocotrienol containing TRF provide protective effects to HaCat cells against oxidative stress, respectively radiation generated ROS. The antioxidative effect was recognizable by the increased cell survival after irradiation under exposure of antioxidant loaded liposomes. TRF acts obviously more protective to HaCat cells than to MCF-7 cells. That difference might be effectuated by the large content of tocotrienols in TRF, respectively D- γ -tocotrienol. The radio-protecting effect is significantly lower using TO in liposomes. These results motivate to an enlarged radio-protecting selectivity to healthy cells. Applying pure D- γ -tocotrienol, optimized concentrations of TPGS and appropriate nanocontainer formulations are promising approaches to improve the radio-protective effects. On the other hand, the decrease of the survival of the cancer cells would be an additional target of further investigations.

REFERENCES

1. Demidova-Rice T. N., Hamblin M. R., Herman, I. M. Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery. *Adv. Skin Wound Care*, no.25, iss.7, Article 304.
2. Bolus N. E. Basic review of radiation biology and terminology. *J. Nucl. Med. Technol.*, no. 29, pp. 67-73.
3. Sen C. K. Human wounds and its burden: an updated compendium of estimates. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, no. 8, pp. 39-48.
4. [6] Ng, S. F. et al. (2010). A comparative study of transmembrane diffusion and permeation of ibuprofen across synthetic membranes using Franz diffusion cells. *Pharmaceutics*, no. 2, pp. 209-223.
5. Duhem, N. et al. (2014). Vitamin E-based nanomedicines for anti-cancer drug delivery. *J. Control. Release*, no. 182, pp. 33-44.
6. Augustyniak A. et al. (2010). Natural and synthetic antioxidants: an updated overview. *Free Radic. Res.*, no. 44, pp. 1216-1262.

УДК 615.453

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИЗУЧЕНИЯ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОТОТИПОВ
ТВЕРДЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ С ФУНКЦИЕЙ КОНТРОЛИРУЕМОГО
ВЫСВОБОЖДЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ**А.В. Болтовская¹, Д.А. Федоришин¹, А.А. Волохова^{1,2}

Научный руководитель: профессор, д.ф.-м.н. И.А. Курзина

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

²Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: strix187@yandex.ru**DEVELOPMENT OF A METHOD FOR STUDYING ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOLID DRUG
DOSAGE FORMS PROTOTYPES WITH THE FUNCTION OF CONTROLLED RELEASE
OF ANTIBIOTICS**A.V. Boltovskaya¹, D.A. Fedorishin¹, A.A. Volokhova^{1,2}

Scientific Supervisor: Prof., Doctor of physical and mathematical sciences I.A. Kurzina

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: strix187@yandex.ru

Abstract. *Currently, there are many methods for testing the antibacterial activity of solid dosage forms intended for targeted delivery and controlled release of drugs. The standard diffusion method has a number of limitations, the main one of which is the impossibility of assessing the antibacterial activity of samples in vitro under conditions of skin damage. Infiltration method has been developed, which allows a deeper assessment of the antibacterial activity of solid dosage forms. As a result of a study on a polymer scaffold model, it was found that targeted delivery of chloramphenicol can potentially increase the growth inhibition of both S. aureus and E. coli, which will further reduce the systemic dose of drugs prescribed to patients.*

Введение. В настоящее время биodeградируемые полимеры считаются очень подходящими кандидатами в качестве материалов для изготовления средств адресной доставки лекарств. В частности, примером таких материалов являются волокнистые полимерные скаффолды, изготовленные методом электроспиннинга. В их структуру могут быть включены антибактериальные вещества, такие как хлорамфеникол [1]. Их уникальные свойства выражаются в активном подавлении роста и развития раневой микрофлоры за счет высвобождения антибактериального средства. Материалы с контролируемым высвобождением можно использовать для уменьшения дозировки лекарственного средства, необходимого для получения аналогичного терапевтического эффекта [2]. Однако тестирование образцов подобного рода сопряжено с множеством трудностей методического характера. Обычно для доклинических исследований антимикробной активности прототипов перевязочных материалов применяется диско-диффузный метод [3]. Значительным ограничением стандартного метода

является невозможность оценки антибактериальной активности образцов *in vitro* в условиях повреждения кожи, предполагающей постоянную инфильтрацию биологических жидкостей – крови, лимфы, экссудата.

Целью исследования является разработка методики изучения антимикробной активности твердых лекарственных форм с функцией контролируемого высвобождения лекарственных средств.

Материалы и методика исследования. Для апробации методики оценки антибактериальной активности были выбраны предварительно подвергнутые магнетронному напылению титана в атмосфере азота скаффолды (шифр «PLLA-CHL» и «PLLA-CHL-M» соответственно), имеющие в составе хлорамфеникол – антибиотик широкого спектра действия. В качестве отрицательного контроля использовались скаффолды без хлорамфеникола в составе (PLLA и PLLA-M). Для изучения антибактериальной активности полученных скаффолдов были применены две разные модели: традиционный диско-диффузионный метод и «инфильтрационная модель». В обеих моделях образцы помещали на поверхность плотной агаризованной среды. Хлорамфеникол из скаффолдов диффундировал в среду, образуя зоны подавления роста бактерий. Для изучения влияния образцов на грамположительную и грамотрицательную микрофлору в качестве тест-объектов использованы бактерии Стафилококк золотистый (*Staphylococcus aureus*) и Кишечная палочка (*Escherichia coli*) ATCC 25922 (American Type Culture Collection). Ключевой особенностью разработанного метода является моделирование сходных с влажной средой раны условий. Для имитации антибактериальной активности образцов в условиях повреждения кожи испытываемые образцы переносили в чашки Петри с аналогичным посевом каждые 24 часа с последующим измерением зоны ингибирования. При этом моделировались такие параметры, как кровотечение, отток раневого отделяемого и вторичная бактериальная инфекция.

Результаты. Незагруженные антибиотиком образцы (PLLA и PLLA-M) не показали антибактериального эффекта. Магнетронное распыление титановой мишени не обеспечивает антибактериальные свойства поверхности скаффолдов.

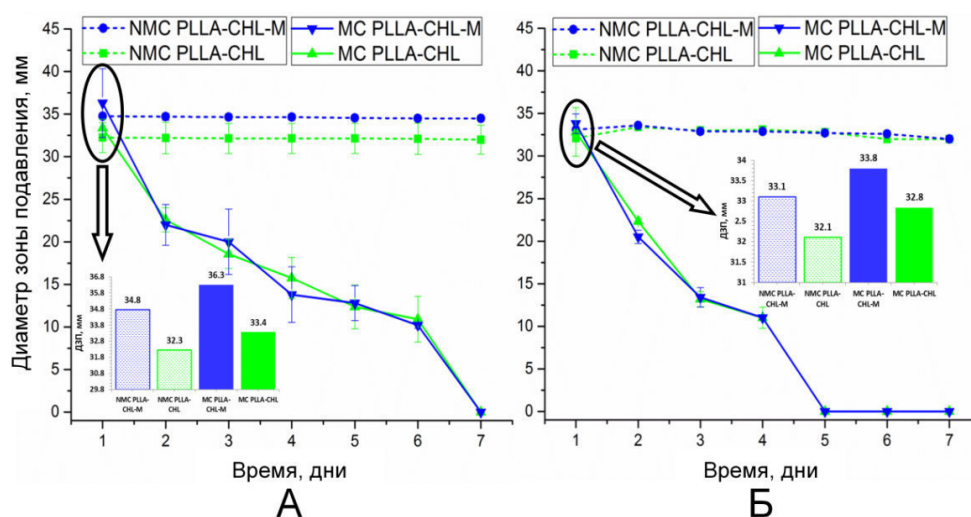


Рис. 1. Динамика зон ингибирования роста тестовых объектов: традиционный диско-диффузионный метод «NMC» - пунктирные линии; инфильтрационная модель «MC» - сплошные линии; необработанные образцы - зеленые линии; обработанные образцы - синие линии;

А – грамотрицательная микрофлора (*Escherichia coli*);

Б – грамположительная микрофлора (*Staphylococcus aureus*)

Образцы групп PLLA-CHL и PLLA-CHL-M показали значительную антибактериальную активность. Антибактериальная активность контрольных образцов обеих групп как для грамположительной, так для грамотрицательной микрофлоры не изменялась на протяжении всего эксперимента ($p > 0.05$). Активность группы PLLA-CHL-M в первый день несколько выше, чем активность группы PLLA-CHL (Рис. 1., гистограммы А-Б). Эти результаты коррелируют с ранее проведенными экспериментами по высвобождению лекарства: обработка увеличивает скорость высвобождения лекарства в первый день экспозиции.

Наблюдаемая активность скаффолдов на разных моделях носит разный характер: без изменения среды зоны ингибирования постоянны, а с изменением среды их диаметр уменьшается в течение эксперимента. По отношению к грамотрицательной микрофлоре активность сохраняется дольше, чем по отношению к грамположительной. Периоды времени, когда образцы проявляют антибактериальную активность в отношении грамотрицательной и грамположительной микрофлоры, составляют 6 и 4 дня соответственно. Это выражается в статистически значимом уменьшении диаметра зон подавления роста микрофлоры при каждой смене среды ($p < 0,05$). Как видно из графиков, антибактериальная активность образцов в отношении грамотрицательной микрофлоры постепенно снижается. В то же время интенсивность снижения уровня активности близка к линейной (Рис. 1). В случае грамположительной микрофлоры интенсивность снижения уровня активности в первые 3 дня также близка к линейной. На третьи и четвертые сутки уровень антибактериальной активности несколько снижается, достигая плато. После четвертых суток снижение также продолжается линейно (Рис. 1). Снижение антибактериальной активности скаффолды может быть связано с тем, что препарат постоянно выделяется из полимерных матриц в измененную среду. Таким образом, результаты показывают, что скаффолды PLLA-CHL и PLLA-CHL-M могут успешно предотвращать рост бактерий.

Заключение. Разработанный подход позволяет провести более глубокую оценку антибактериальной активности твердых лекарственных форм, предназначенных для адресной доставки и контролируемого высвобождения антибиотиков. На модели полимерных скаффолдов показано, что адресная доставка хлорамфеникола может потенциально увеличить ингибирование роста как *S. aureus*, так и *E. coli*, что в дальнейшем позволит снижать назначаемую пациентам системную дозу препаратов. Кроме того, магнетронное напыление не снижает антибактериальную активность образцов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ракина А.А. Синтетические биodeградируемые матриксы на основе полимолочной кислоты как агенты для адресной доставки хлорамфеникола // Высокие технологии в современной науке и технике (ВТСНТ-2016): Сборник научных трудов V Международной научно-технической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов. – Томск, 2016. – С. 168–169.
2. Wu D.Y., Wang S.S., Wu C.S. Antibacterial properties and cytocompatibility of biobased nanofibers of fish scale gelatine, modified polylactide, and freshwater clam shell // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – V. 165 (Pt A). – P. 1219-1228.
3. ОФС.1.2.4.0010.15 Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар. [Текст]. – М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 39 с.

УДК 615.2

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ МУЖСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ
СИСТЕМЫ В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ НИЗКИХ ДОЗ МЕТОТРЕКСАТА**

Е.А. Бохан

Научный руководитель: профессор, д.б.н. Т.Г. Боровская

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга,

Россия, г. Томск, пр. Ленина 3, 634028

E-mail: bokhan_ea@pharmso.ru

**EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF THE STATE OF THE MALE REPRODUCTIVE SYSTEM IN
THE LONG TIME AFTER THE INTRODUCTION OF LOW DOSES OF METOTREXATE**

E.A. Bokhan

Scientific adviser: professor, doctor of biological sciences T.G. Borovskaya

Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named E.D. Goldberg, Russia, Tomsk, Lenin

Str., 3, 634028

E-mail: bokhan_ea@pharmso.ru

Abstract. *The morphological and functional state of the reproductive system was studied in long-term (3 months) after methotrexate (MTX) administration in male outbred rats (SD stock) and male C57Bl / 6 mice. The drug was administered subcutaneously once a week for four weeks, the dose for male rats was 1 mg / kg, for male mice 2.2 mg / kg. It has been established, that male rats retain the ability to conceive, their reproductive potential is not limited by an increased risk of embryo death. At the same time, signs of astheno- and pathospermia are revealed. Testicular tissue is characterized by a reduced content of sources of the proliferative pool of spermatogenesis. In the testis cells of mice treated with MTX, an increased content of DNA breaks is detected.*

Введение. Метотрексат (MTX) используется в лечении ряда заболеваний онкологической практики, при лечении ревматоидного артрита. К числу недостатков препарата принадлежат – тестикулярная токсичность (олигоспермия, астеноспермия), повреждающее действие на ДНК соматических и половых клеток [1, 2]. Результаты экспериментальных и клинических наблюдений показывают, что в ранние сроки после введения MTX, способность к зачатию не снижается, также не выявляются возрастания случаев гибели оплодотворенной яйцеклетки, мертворождения и внешних пороков развития у потомства. В последнее время было выявлено, что MTX угнетает процессы репаративной регенерации ДНК, что может вызвать длительно сохраняющиеся мутагенные эффекты [3]. Сравнительно недавно показано, что MTX индуцирует геномную нестабильность и ингибирует JAK/STAT, который играет важную роль в стимуляции митотической активности стволовых сперматогонимальных клеток [4]. Следовательно, наряду с угнетением репарации ДНК клеток тестикулярной ткани, есть вероятность развития недостаточности сперматогенеза в отдаленные сроки после введения MTX. Ввиду большой распространенности ревматоидного артрита, в настоящее время остается актуальным вопрос о состоянии репродуктивной функции мужчин, принимающих этот препарат в низких дозах и планирующих деторождение. Целью настоящего исследования явилось

экспериментальное изучение морфологического и функционального состояния мужской репродуктивной системы в отдаленные сроки после введения низких доз МТХ.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 30 аутбредных крысах-самцах (сток SD), массой тела 250-350 г, 2,5 месячного возраста и 10 мышах-самцах линии C₅₇Bl/6 массой тела 20-22 г в возрасте 2 мес.

Крысы-самцы были разбиты на 2 группы (по 15 особей в каждой). Первой группе животных вводили МТХ (Ebeve Pharma, Австрия) подкожно четырехкратно, с недельными интервалами в дозе 1 мг/кг. Вторая группа – интактные животные (фон). Через 3 месяца после начала опыта проводили ссаживание крыс-самцов, с интактными крысами-самками в течение 10 суток в соотношении 1:2. Спаривание регистрировали с помощью вагинальных мазков. Крыс-самок выводили из эксперимента (в CO₂ камере) на 20-й день после скрещивания, вскрывали, фиксировали факт беременности, у беременных животных подсчитывали количество желтых тел в яичнике, мест имплантации в матке, живых и мертвых плодов, вычисляли показатели пре- и постимплантационной смертности. Для крыс-самцов определяли способность к зачатию (индекс фертильности) [5]. Крыс-самцов после подсадки взвешивали, выводили из эксперимента (в CO₂ камере), вскрывали, извлекали и семенник и хвостовую часть придатка семенника, определяли их массовые коэффициенты. Один эпидидимис гомогенизировали и подсчитывали общее количество половых клеток на придаток семенника (ОКС), количество подвижных форм (ПФ). Второй придаток семенника разрезали на предметном стекле, делали мазок, который фиксировали, окрашивали азур-эозином. Затем подсчитывали процент патологических форм спермиев (ПФС). Семенники фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 5 мкм. На срезах, окрашенных гематоксилин-эозином, оценивали численность клеточной популяции нормальных сперматогоний (НС), мейотическую активность (МА) или количество канальцев с 12-й стадией мейоза, индекс сперматогенеза (ИС), количество клеток Сертоли (КС), клеток Лейдига (КЛ) [5].

Оценка состояния ДНК в тестикулярных клетках в отдаленные сроки после введения МТХ проводилась на мышах-самцах. Процент ДНК-повреждений оценивали методом ДНК-комет [6]. Первой группе животных вводили подкожно МТХ (Ebeve Pharma, Австрия) четырехкратно, с недельными интервалами в дозе 2,2 мг/кг. Вторая группа представляла собой интактных животных (фон). Гель-электрофорез изолированных клеток проводили в щелочной версии, в соответствии с рекомендациями. Препараты окрашивали флуоресцирующим красителем SYBR Green I (Sigma-Aldrich, США). Анализ проводился на флуоресцентном микроскопе (Микромед 3 Люм LED, Россия), совмещенном с цифровой камерой высокого разрешения, при увеличении x200. Полученные с микропрепаратов изображения ДНК-комет фотографировались и анализировались с использованием программного обеспечения CometD. В качестве показателя поврежденности ДНК было использовано процентное содержание ДНК в хвосте (%ДНК в хвосте). С каждого микропрепарата было проанализировано 100 клеток.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе Statistica 13. Экспериментальные данные обрабатывались статистически с помощью непараметрического U критерия Манна-Уитни и углового преобразования Фишера.

Результаты. Установлено, что через 3 месяца после введения МТХ массовые коэффициенты семенников, хвостовой части придатка семенника и ОКС статистически значимо не отличались от фоновых значений. В тоже время выявлялось уменьшение количества ПФ (на 15%) и возрастание (на 25%) числа ПФС. Однако это не привело к снижению фертильности самцов, способность к зачатию

сохранилась. Показатели пре- и постимплантационной смертности у крыс-самок, спаренных с крысами-самцами, которым вводили МТХ, статистически значимо не отличались от фоновых значений. Морфологическая оценка тестикулярной ткани показала, что численность клеточной популяции НС у животных экспериментальной группы оказалась статистически значимо сниженной (на 25%) от фоновых значений. При подсчете количества КС достоверного снижения этого показателя в настоящем исследовании не выявлялось, хотя в экспериментальной группе отмечалась тенденция к его снижению. Индекс сперматогенеза, количество канальцев с 12-й стадией мейоза в семенниках крыс и КЛ не отличались от таковых у интактных самцов.

Процент ДНК-разрывов в клетках тестикулярной ткани у мышей, которым вводили МТХ, оказался в 1,6 раза выше фоновых значений и составил 4.40 ± 0.28 (у интактных животных – 2.70 ± 0.13 , $P \leq 0,01$).

Заключение. В отдаленные сроки после введения МТХ в низких дозах крысы-самцы сохраняют способность к зачатию, их репродуктивный потенциал не ограничен повышенным риском гибели эмбрионов. В клетках семенников мышей, получавших МТХ, выявляется повышенное содержание ДНК-разрывов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gu S., Ying W., Jianbo Y. Screening of cytoprotectors against methotrexate-induced cytogenotoxicity from bioactive phytochemicals // ECollection – Retrieved May 11, 2016, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27190706>
2. Gutierrez J., Hwang K. The toxicity of methotrexate in male fertility and paternal teratogenicity // Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology. – 2017. – V. 13., № 1. – P. 51–58.
3. Xie L., Zhao T., Cai J., Su Y., Wang Z., Dong W. Methotrexate induces DNA damage and inhibits homologous recombination repair in choriocarcinoma cells // Onco Targets Ther. – 2016. – V. 9. – P. 7115–7122.
4. Lei Z., Qi-sheng Z., Dong Li, Chao L., EAhmed K., Bei-bei T., Jiu-zhou S., Ya-ni Z., Bi-chun LI. Study on the role of JAK/STAT signaling pathway during chicken spermatogonial stem cells generation based on RNA-Seq // Journal of Integrative. – 2015. – V. 14., N 5. – P. 939–948.
5. Дурнев А.Д., Смольникова Н.М., Скосырева А.М., Шредер О.В., Гуськова Т.А., Верстакова О.Л., Сюбаев Р.Д. Методические рекомендации по изучению репродуктивной токсичности лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – М.: НЦЭСМП, 2013. – С. 80–93.
6. Дурнев А.Д., Меркулов В.А., Жанатаев А.К., Никитина В.А., Воронина Е.С., Середенин С.Б. Методические рекомендации по оценке ДНК-повреждений методом щелочного гель-электрофореза отдельных клеток в фармакологических исследования. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – Ч.1/М.: Гриф и К, – 2012., – С. 115–128.

УДК 577.29

**ИЗУЧЕНИЕ РНК-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕЖДУ ГЛИЦИЛ-ТРНК
СИНТЕТАЗОЙ И ВИРУСНЫМ IRES ТИПА I**Е.С. Виноградова, А.А. Танцура

Научный руководитель: к.б.н. Е.Ю. Никонова

Институт белка Российской академия наук,

Россия, г. Пущино, ул. Институтская, 4, 142290

E-mail: es.vinogr@gmail.com**STUDYING OF RNA-PROTEIN INTERACTIONS BETWEEN GLYCYL-tRNA
SYNTHETASE AND VIRAL IRES TYPE I**E.S. Vinogradova, A.A. Tantsura

Scientific Supervisor: Dr. E.Yu. Nikonova

Institute of protein research, Russia, Pushchino, st. Institutskaya, 4, 142290

E-mail: es.vinogr@gmail.com

Abstract. Enteroviruses have type I IRES. However, at the moment, there is no complete understanding of the mechanisms of operation of both the IRES itself and the additional protein factors involved in initiation. Recently, it has been shown that human glycyl-tRNA synthetase is one of such factors (trans-acting factors IRES - ITAF) that interacts with the apical part of the V domain of the poliovirus IRES and stimulates its activity. As a result of this study, we've obtained a new genetic construct that encodes the gene for human glycyl-tRNA synthetase with 6 point mutations. We have developed a method of purification of this mutant form. It received extra thermostability and saved ability to form a complex with IRES fragments.

Введение. Кэп-независимая инициация трансляции представляет большой интерес для фундаментальной науки, как альтернативный путь инициации синтеза белка. Именно такой путь инициации трансляции используют энтеровирусы. Энтеровирусы поражают высших позвоночных, вызывая широкий спектр заболеваний от простуды до поражения центральной нервной системы, параличей, отеков и даже смерти. Тем не менее, процесс, происходящий во время инициации трансляции на вирусных мРНК, полностью не изучен. Известно, что преинициаторный комплекс напрямую связывается со специфическим участком вирусной мРНК. Этот участок посадки рибосомы представлен сайтом внутренней посадки рибосомы первого типа (IRES I).

До сих пор нет уверенности в том, что все участники инициации трансляции на IRES I идентифицированы, а для известных элементов механизм их функционирования остается неясным. Как было показано, одним из ключевых регуляторов инициации трансляции IRES I является глицил-ТРНК синтетаза (hGlyRS). [1] Она специфически связывается с мРНК в области домена V полиовируса IRES, который содержит область, имитирующую шпильку антикодона tRNA^{Gly}. Такое связывание приводит к значительной стимуляции трансляции, направляемой IRES [2].

Экспериментальная часть. Ранее в нашей лаборатории пытались выделить глицил-ТРНК синтетазу человека (hGlyRS) в препаративных количествах, однако, количество выделяемого белка было

низким. Белок нарабатывался почти полностью в нерастворимой форме. Это может быть обусловлено агрегацией и неправильным фолдингом при гетерологичной экспрессии в бактериальной системе.

Для выхода из сложившейся ситуации было решено ввести в ген GARS ряд точечных замен. С помощью программного обеспечения и подхода, предложенного группой израильских ученых [3], была рассчитана набор мутаций для hGlyRS (от 6 до 47). Минимальный набор мутаций включал в себя следующие замены: Val382Met, Tyr416Phe, Ser423Asp, Asn573Ser, Ala609Pro, Glu698Pro. Внесение замен осуществляли с помощью метода PCR Quick Change. Для исключения накопления нежелательных мутаций в экспрессионном векторе полученный ген GARS с 6 точечными мутациями переносили в вектор pET-22b (+).

Вторым этапом нашей работы стало получение препарата mut-hGlyRS с чистотой, пригодной для кристаллизации, и проведение экспериментов по связыванию мутантного белка с фрагментами вирусных IRES.

Ген мутантной формы глицил-тРНК синтетазы был экспрессирован в штамме-суперпродуcente *E. coli* BL21(DE3), котрансформированом плазмидой Rosetta [4]. Клеточную культуру выращивали при 37°C с интенсивным перемешиванием (160 об/мин) на богатой среде LB с добавлением селективных антибиотиков: ампицилина и хлорамфеникола, до оптической плотности D590 = 0,8. Индукцию проводили изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид (ИПТГ) до конечной концентрации 0,5 mM. После добавления индуктора клетки инкубировали при 20°C в течение 17 ч. Биомассу ресуспендировали в лизирующем буфере (50 mM трис-HCl, pH 8,0, 500 mM NaCl, 5 mM β-ME) и разрушали ультразвуком в течение 20 мин.

Внесенные нами замены повлияли на глицил-тРНК синтетазу так, что она перестала денатурировать при температуре до 55 °C, тогда как hGlyRS дикого типа агрегирует уже при 40 °C. Это значительно облегчило выделение и очистку данного препарата.

Несмотря на то, что mut-hGlyRS содержит на С-конце последовательность из 6 гистидинов (HisTag), проведение аффинной хроматографии не дает возможности получить чистый целевой белок после первой хроматографии, т.е. требуются дополнительные стадии очистки препарата. Была выбрана еще одна аффинная хроматография на смоле HiTrap Heparin High Performance. Заключительный этап очистки – эксклюзионная хроматография на колонке HiLoad 16/60 Superdex 200 (120 ml). Фракции, содержащие чистый целевой белок, объединяли и концентрировали до 20 мг/мл.

Методы получения мРНК и образование комплексов mut-hGlyRS с полученными фрагментами IRES те же, что описанные нами ранее [5].

Полученные РНК-белковые комплексы подвергались дополнительной стадии очистки с помощью эксклюзионной хроматографии на колонке HiLoad 16/60 Superdex 200 (120 ml).

Результаты. В ходе проделанной работы были рассчитаны аминокислотные замены в глицил-тРНК синтетазе человека, позволяющие сделать процесс наработки и выделения белка более эффективным, а сам белок более стабильным; получена генетическая конструкция, несущая ген GARS с 6 мутациями, и разработана схема выделения и очистки mut-hGlyRS, которая позволила выделить мутантную формы глицил-тРНК синтетазы с чистотой пригодной для кристаллизации.

С помощью анализа сдвига электрофоретической подвижности РНК в акриламидном геле и при гель-фильтрации на смоле Superdex 200 нами было показано образование РНК-белковых комплексов

mut-hGlyRS. Этот результат подтверждает, что внесенные нами замены не повлияли на способность мутантной формы глицил-тРНК синтетазы взаимодействовать с фрагментами IRES.

Заключение. Всестороннее изучение комплексов между GARS и специфическими фрагментами IRES энтеровирусов, решение и анализ их структур даст ключ к пониманию механизма регуляции кэп-независимой инициации трансляции у этих вирусов. Полученная нами мутантная форма глицил-тРНК синтетазы человека, обладающая большей стабильностью и не потерявшая свойств белка дикого типа, поможет нам приступить к поиску условий кристаллизации ее комплексов с фрагментами вирусной мРНК и последующему анализу РНК-белкового взаимодействия в этих комплексах.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90135.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Andreev D.E., et al. Glycyl-tRNA synthetase specifically binds to the poliovirus IRES to activate translation initiation // *Nucleic Acids Research*. – 2012. – Vol. 40., № 12. – P. 5602–5614.
2. Никонов О.С., и др. Поиск предполагаемых участков связывания глицил-тРНК синтетазы на IRES-элементах пикорнавирусов // *Актуальные вопросы биологической физики и химии*. – 2016. – Т. 1., № 1. – С. 258–262.
3. Goldenzweig A., et al. Automated Structure- and Sequence-Based Design of Proteins for High Bacterial Expression and Stability // *Molecular Cell*. – 2016 – Vol. 63., № 2 – P. 337–346.
4. Novy R., et al. Overcoming the codon bias of *E. coli* for enhanced protein expression // *Newsletter of Novagene*. – 2001. – Vol. 12. – P. 1–3.
5. Никонова Е.Ю., и др. Взаимодействие глицил-тРНК синтетазы с участками IRES, находящимися за пределами 5' домена // *Актуальные вопросы биологической физики и химии*. – 2017. – Т. 1., № 1. – С. 175–177.

УДК 612.17

УЧАСТИЕ КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ИНФАРКТ-ЛИМИТИРУЮЩЕМ ЭФФЕКТЕ АДАПТАЦИИ К ХОЛОДУ

Н.С. Воронков

Научный руководитель: профессор, д.м.н. Л.Н. Маслов

Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, НИИ кардиологии,

Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, 634009

E-mail: niks.voronkov@gmail.com

INVOLVEMENT OF CANNABINOID RECEPTORS IN THE CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF ADAPTATION TO COLD

N.S. Voronkov

Scientific Supervisor: Prof., PhD, L.N. Maslov

Tomsk national research medical center of the Russian academy of sciences, cardiology research institute,

Russia, Tomsk, Kooperativnii str., 5, 634009

E-mail: niks.voronkov@gmail.com

Abstract. The phenomenon of cross-resistance lies in the fact that after stress exposure there is resistance not only to the factor that caused this condition, but also to other irritants that are excessive in strength. It is shown that after the body adapts to various extreme influences, cross-resistance to the pathogenic effect of ischemia and myocardial reperfusion appears. Also, we have previously shown that adaptation to cold has a infarct-limiting effect. However, it is still not known whether cannabinoid receptors are involved in the mechanisms of the development of this effect. The study was performed on male Wistar rats, which were subjected to continuous cold exposure (+ 4°C, 4 weeks). The day after the end of adaptation, the rats were injected with cannabinoid receptor antagonists and underwent coronary occlusion (45 min) and reperfusion (120 min) of the heart. After that, myocardial sections were made and stained. The planimetric method was used to evaluate the ratio of the area of the myocardial necrosis zone to the risk area. It was shown that administration of cannabinoid receptor antagonists did not affect the size of myocardial infarction in any way. Thus, it can be concluded that cannabinoid receptors are not involved in the development of the infarction-limiting effect of chronic cold adaptation.

Введение. Повышение толерантности сердца к ишемии/реперфузии (ИР) является актуальной задачей физиологии, фармакологии и кардиохирургии, поскольку ишемические и реперфузионные повреждения сердца часто является причиной кардиогенного шока и последующей смерти пациентов в послеоперационном периоде. Известно, что после адаптации к различным экстремальным факторам появляется перекрёстная резистентность к повреждающему воздействию ИР миокарда [1]. Коллективом нашей лаборатории ранее было продемонстрировано что адаптация к холоду обладает инфаркт-лимитирующим эффектом [2], однако до сих пор не известно принимают ли участие каннабиноидные рецепторы в механизме развития кардиопротекторного эффекта холодовой адаптации.

Цель работы – оценить участие каннабиноидных рецепторов в кардиопротекторном эффекте длительного холодового воздействия.

Материалы и методы. Работа выполнена на 43 крысах-самцах линии Wistar массой 200 - 220 г. Три группы крыс круглосуточно содержались в холодильной камере при +4°C в течение 28 суток. Животные контрольной группы (n=10) содержались в стандартных условиях вивария. Через 24 часа после окончания холодового воздействия крысам внутривенно вводили селективные антагонисты CB1 (римонабант, 1мг/кг) [3] и CB2 каннабиноидных рецепторов (AM-630, 2,5 мг/кг) [4] и через 15 минут проводили коронароокклюзию (45 мин) и реперфузию (120 мин) по методу Schultz и соавторов.

Определение зоны некроза (ЗН) и области риска (ОР) проводили по методу J. Neekar и соавторов. Областью риска обозначается участок сердечной мышцы, подвергшийся воздействию ишемии и реперфузии. После проведения реперфузии изготавливали срезы миокарда левого желудочка. Зона некроза выделялась из области риска путем окрашивания 1% раствором 2,3,5-трифенилтетразолияхлорида (30 минут, 37°C), являющегося индикатором жизнеспособных клеток и тканей. Размер ЗН и ОР определяли компьютеризированным планиметрическим методом и выражали в процентах как соотношение ЗН/ОР (%).

Результаты. У крыс, подвергнутых непрерывному холодовому воздействию (24 ч, +4°C, 28 суток), индекс ЗН/ОР уменьшился на 39% по сравнению с контрольными животными. Эти данные свидетельствуют об инфаркт-лимитирующем воздействии хронической холодовой адаптации.

При этом введение адаптированным к холоду крысам антагонистов CB1 и CB2-каннабиноидных рецепторов никак не повлияло на соотношение показателя ЗН/ОР по сравнению с группой холодового контроля (Рисунок 1).

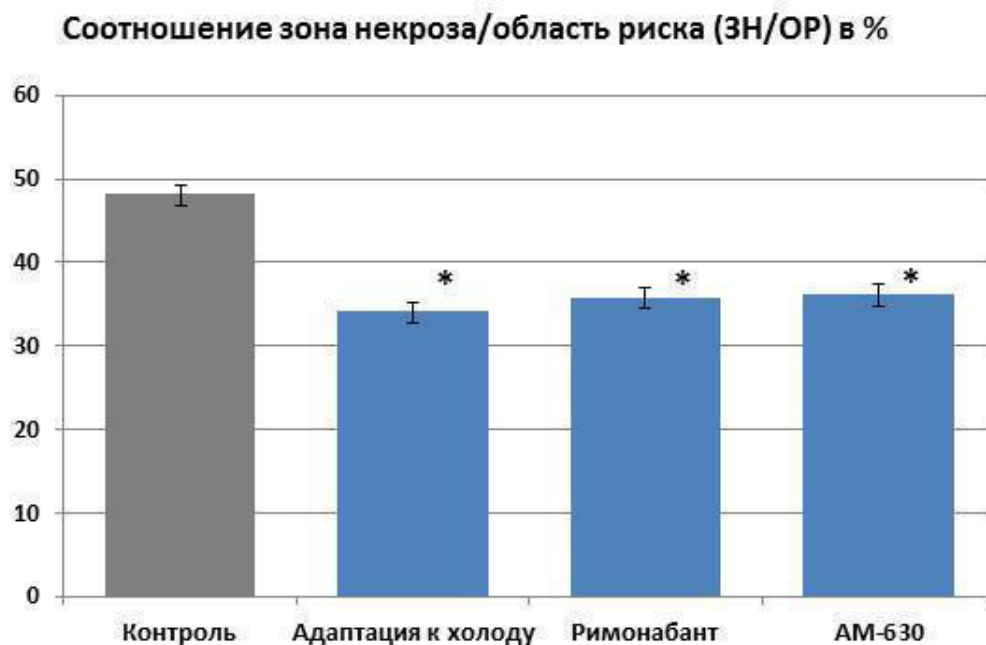


Рис. 1. Сравнение области инфаркта по группам.

Примечание: * – значимые отличия по сравнению с группой контроля при $p < 0,05$

Заключение. Таким образом, нами было установлено, что каннабиноидные рецепторы не участвуют в развитии инфаркт-лимитирующего эффекта хронической холодовой адаптации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Meerson F.Z. et al. Animal resistance to sublethal hypoxia may be raised more by adaptation to stress than by adaptation to hypoxia // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 1993. – Vol. 116., № 6, – P. 1467–1471.
2. Цибульников С.Ю., Маслов Л.Н., Иванов В.В., Нарыжная Н.В., Цибульникова М.Р. Инфаркт-лимитирующий эффект адаптации к непрерывному холодовому воздействию // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2016. – Т. 102, № 11. – С. 1363–1368.
3. Lichtman A.H., Wiley J.L., LaVecchia K.L., Nevaser S.T., Arthur D.B., Wilson D.M., Martin B.R. Effects of SR 141716A after acute or chronic cannabinoid administration in dogs // European Journal of Pharmacology. – 1998. – Vol. 357, №2-3, – P. 139-148.
4. Toguri J.T., Moxsom R., Szczesniak A.M., Zhou J., Kelly M.E., Lehmann C. Cannabinoid 2 receptor activation reduces leukocyte adhesion and improves capillary perfusion in the iridial microvasculature during systemic inflammation // Clinical Hemorheology and Microcirculation. – 2015. – Vol. 61, № 2. – P. 237-249.

УДК: 616.24-006. 616.9

**РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА У БОЛЬНЫХ
НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО**К.А. Гаптулбарова^{1,2}, Д.С. Долгашева^{1,2}, М.К. Ибрагимова¹

Научный руководитель: к.б.н. М.М. Цыганов

¹НИИ онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН,
Россия, г. Томск, пер. Кооперативный 5, 634050²Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050E-mail: xenia.gaptulbarova@yandex.ru**PREVALENCE OF THE HUMAN PAPILLOMA VIRUS IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL
LUNG CANCER**K.A. Gaptulbarova^{1,2}, D.S. Dolgasheva^{1,2}, M.K. Ibragimova¹

Scientific Supervisor: researcher, PhD M.M. Tsyganov

¹Tomsk Cancer Research Institute, Russia, Tomsk, Kooperativny Street, 5, 634050²Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenina av., 36, 634050E-mail: xenia.gaptulbarova@yandex.ru

Abstract. *To date, the question of the significance of the human papillomavirus (HPV) in the emergence and development of lung cancer remains open. The available published literature data, due to the inconsistency of the results obtained, do not provide convincing evidence of the participation of HPV in the pathogenesis of this oncopathology. And in Russia, studies on determining the role of this virus in the carcinogenesis of lung cancer are not found at all. In the present study, we assessed the prevalence of HPV among patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). The study included 109 patients with primary operable non-small cell lung cancer stage IIB-IIIa. As a result, the presence of HPV was detected in 3 patients (10.0%) and in 27 patients (90.0%) the virus was not detected in the tumor. Assessment of the degree of integration of the virus in HPV16-positive patients with lung cancer showed that a mixed and integrated form of the virus was detected in the tumor tissue of patients. Metastatic-free survival analysis showed that all patients with HPV in tumor tissue have a 100% 5-year survival rate.*

Введение. Рак легкого занимает второе место по распространенности среди других видов рака во всем мире. Известно, что в большинстве случаев данному заболеванию подвержены курильщики. Однако помимо курения на сегодняшний день выявлено большое количество других разнообразных факторов риска развития рака легкого. Самыми распространенными из них являются воздействие промышленных канцерогенов, различные молекулярно-генетические факторы, например полиморфизмы регуляторных генов, миссенс-мутации, а также уже имеющиеся хронические воспалительные заболевания бронхов и легких. Помимо этого в последние годы среди ученых набирает популярность гипотеза о вирусной этиологии рака легкого. Хорошо известно, что высокоонкогенные типы вируса папилломы человека (ВПЧ) являются этиологическим фактором риска развития рака шейки матки [1]. Помимо этого ВПЧ является прогностическим фактором при опухолях верхних дыхательных путей и

пищеварительного тракта [2], однако конкретных доказательств участия вируса папилломы человека непосредственно в канцерогенезе легкого пока получено не было. По данным мета-анализа, частота встречаемости ВПЧ при раке легкого колеблется в широких пределах, то есть от полного отсутствия вируса в опухолевой ткани до наличия более чем в 75% [3, 4]. Также следует отметить, что на российской популяции масштабных исследований подобного рода проведено не было. Таким образом, несмотря на то, что в данном направлении активно ведутся исследования, имеющиеся на сегодняшний день литературные данные противоречивы, и не дают убедительных доказательств участия ВПЧ в патогенезе рака легкого.

Целью данной работы явилось определение наличия ВПЧ-инфекции высокого канцерогенного риска у больных немелкоклеточным раком легкого.

Материалы и методы. В исследование было включено 109 больных первично-операбельным немелкоклеточным раком легкого IIВ-IIIА стадии. В качестве исследуемого материала были использованы операционные образцы нормальной и опухолевой ткани легкого, а также цельная кровь на каждого пациента. ДНК из полученных образцов выделяли при помощи набора QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany) в соответствии с инструкцией производителя. Концентрация ДНК измерялась при помощи флуориметра Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, USA) с использованием набора для количественной оценки ДНК. Концентрация полученной ДНК составила от 10 до 100 нг/мкл. Выявление и генотипирование ДНК ВПЧ проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием комплектов реагентов фирмы «Amplisens®» (Москва, Россия). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica 8.0» (StatSoft Inc., USA).

Результаты. В настоящем исследовании была оценена частота встречаемости ВПЧ в группе пациентов с немелкоклеточным раком легкого. ВПЧ был обнаружен у 17,4% пациентов (19 из 109 случаев). Моноинфекция и микст-инфекция наблюдалась у 13 и 6 больных (68,4% и 31,6%), соответственно. В исследуемой группе больных было определено 7 типов ВПЧ ВКР: 16, 18, 31, 35, 51, 52, 56. Большинство ВПЧ-положительных образцов идентифицировано в крови исследуемых пациентов (10 случаев) с наличием в ней 16, 18, 51 и 56 типов вируса. У 6 больных вирус был обнаружен в нормальной ткани легкого, у четырех пациентов наблюдалась микст-инфекция: у двоих 51 и 56 типы, по одному с 35, 52 и 16, 18, 31 типами. В опухолевой ткани вирус найден у 4 больных НМРЛ, еще у двоих микст-инфекция с 18, 31 и 51, 56 типами соответственно. Стоит отметить, что у одного из пациентов ВПЧ наблюдался как в нормальной (35, 52 типы), так и в опухолевой ткани (52 тип). В исследуемых ВПЧ-положительных образцах преимущественно наблюдалась малозначимая вирусная нагрузка. Повышенная и значимая чаще встречалась у пациентов с ВПЧ в образцах нормальной ткани легкого.

Далее в зависимости от инфицированности ВПЧ, пациенты были разделены на 2 группы наблюдения: ВПЧ-положительные (n=19) и ВПЧ-негативные (n=90). Затем проведена оценка безметастатической выживаемости больных РЛ в зависимости от инфицированности ВПЧ ВКР. Было обнаружено, что у ВПЧ-положительных пациентов наблюдается 100% 5-летняя безметастатическая выживаемость по сравнению с ВПЧ-отрицательными пациентами (выживаемость 73%), (Рисунок 1). Различия статистически не значимы, но имеют выраженную тенденцию (log-rank test, p=0,08).

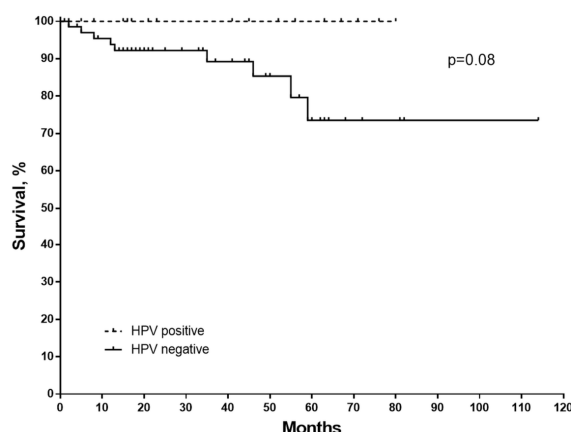


Рис. 1. Безметастатическая выживаемость ВПЧ-положительных и ВПЧ-отрицательных больных РЛ

Таким образом, у ВПЧ-положительных больных показан высокий уровень безметастатической выживаемости. Несмотря на малочисленность выборки, полученные данные о благоприятном исходе у больных раком легкого, при наличии ВПЧ, являются очень интересными, и требуется дальнейших исследований в данном направлении.

Заключение. В результате проведенного исследования, были получены данные о частоте распространения ВПЧ ВКР среди больных немелкоклеточным раком легкого, определена вирусная нагрузка у ВПЧ-положительных пациентов. Получены данные по безметастатической выживаемости ВПЧ-положительных и ВПЧ-негативных больных РЛ. Для ВПЧ-положительных больных определена 100% безметастатическая выживаемость. Следует провести дальнейшие исследования и обратить пристальное внимание на определение наличия ВПЧ как на маркер благоприятного исхода при раке легкого.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-015-00023 «Исследование роли вируса папилломы человека (ВПЧ) в канцерогенезе немелкоклеточного рака легкого».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hung R.J., McKay J.D., Gaborieau V., et al. A susceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetylcholine receptor subunit genes on 15q25 // *Nature* – 2008. – V. 452., № 7187. – P. 633-637.
2. Klein F, Kotb WFA, and Petersen I, Incidence of human papilloma virus in lung cancer. // *Lung Cancer*. – 2009. – V. 65., № 1. – P. 13-18.
3. Kato T, Koriyama C, Khan N, Samukawa T, Yanagi M, Hamada T, Yokomakura N, Otsuka T, Inoue H, and Sato M, EGFR mutations and human papillomavirus in lung cancer // *Lung Cancer*. – 2012. – V. 78., №2 – P. 144-147.
4. Thomas P, De XL, Garbe L, Castelnau O, and Kleisbauer J, Detection of human papillomavirus by polymerase chain reaction in primary lung carcinoma // *Bulletin du cancer*. – 1996. – V. 83., № 10 2 – P. 842-846.

УДК: 613.6.614.89

**ПОРАЖЕНИЕ СЕНСОРНЫХ СИСТЕМ (ВКУС И ЗАПАХ) У БОЛЬНЫХ И КОНТАКТНЫХ
COVID-19 ПРИ НАРУШЕНИИ ПРИМЕНЕНИЯ СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ**

А.А. Горбунов, К.В. Волна

Научный руководитель: старший преподаватель С.В. Иванов

Крымский Федеральный университет им. В.И. Вернадского» Медицинская академия им. С.И. Георгиевского

Республика Крым, г. Симферополь, бул. Ленина 5/7

e-mail: sashaagor@mail.ru

**DAMAGE TO SENSORY SYSTEMS (TASTE AND SMELL) IN PATIENTS CONTACT TO
COVID-19 WITH VIOLATION OF THE USE OF PERSONAL PROTECTIVE EQUIPMENT**

A. A. Gorbunov, K. V. Volna

Scientific supervisor: Senior lecturer S. V. Ivanov

V. I. Vernadsky Crimean Federal University S. I. Georgievsky Medical Academy Republic of Crimea,

Simferopol, bul. Lenin 5/7, 295000

e-mail: sashaagor@mail.ru

Abstract. *The coronavirus infection swept the whole world in a matter of weeks. In this paper, we investigate the degree of effectiveness in the prevention of personal protective equipment in the new coronavirus infection COVID-19. The results of the study confirmed the effectiveness of measures such as antiseptics, social distance, and hand washing.*

Введение. Во время пандемии COVID-19 основными методами профилактики заражения являются средств индивидуальной защиты: ношение одноразовых и многоразовых масок, обработка рук антисептиком, соблюдение дистанции в 1,5м и избегание скопления людей. Среди данных методов есть свои особенности, что ставит вопрос о разумности применения тех или иных методов профилактики

Хирургическая маска, или медицинская маска, первоначально была разработана для защиты медицинского персонала от случайного вдыхания или глотания капель биологических жидкостей [1]. Доказано, что данный тип маски не может полностью защитить от вдыхания мелких летучих патогенных бактерий. Существуют категории одноразовых респираторов в зависимости от их типа и стандарта сертификации - степень фильтрации частиц 0,3 мкм: FFP1 примерно 80%; FFP2 примерно 94%, аналогичны N95-95%; FFP3 примерно 99%, аналогичны N99. Респираторы предназначены для защиты носителя от вдыхания частиц, находящихся в воздухе [2]. Одноразовый респиратор N95 применяется как защита от твердых и жидких аэрозолей. Респиратор состоит из четырех слоев. Так же существует респираторы N99 (строение такое же как и у N95, однако данные маски фильтруют 99% частиц) [1].

Дополнительный метод индивидуальной защиты - использование антисептиков для рук. Входящие в состав вещества - этанол 60%, изопропанола и их производные - позволяют разрушить капсид вируса. В связи с пандемией COVID-19 увеличился спрос на кожные антисептики. В исследовании ученых было обнаружено, что наиболее универсальными антисептиками являются: «Хлоргексидин спиртовой»,

«Стерилиум» и «Alsoft R» / «Alsoft R plus». Наиболее длительный дезинфицирующий эффект наблюдается при обработке «Стерилиум» (от 3 до 6 часов) и «Хлоргексидин спиртовой» (до 4 часов)[2].

Целью исследования являлось сравнить эффективность применения средств индивидуальной защиты среди переболевших и ранее не переболевших COVID-19, а так же изучить скорость развития anosмии и агезии у переболевших в зависимости от средств индивидуальной защиты.

Материалы и методы. В качестве материалов была использована специально созданная анкета. Анкета состояла из 19 вопросов с приведенными вариантами ответов. Респондентам необходимо было выбрать от одного до трех ответов, которые соответствуют им. Методами являлись анализ результатов с последующим синтезом полученных результатов анализа.

Результаты исследования. В нашем исследовании приняло участие 66 человек: 25 мужчин и 41 женщина. Возраст от 22 до 45 лет. Из них, переболело новой коронавирусной инфекцией 24 человека – 36,4%. Имели контакт с больными COVID-19 50 человек-75,8%: из них 30 человек (45,5%) не болели COVID-19, а 20 человек-30,3%-переболели инфекцией SARS-CoV2.

В качестве симптомов заболевания мы брали потерю вкуса и запахов, так как именно anosмия и агезия являются частыми предикторами и маркерами персистенции SARS-CoV2 в организме. Время исчезновения вкуса и запаха представлены на рисунке 1. В 66,7% случаев среди перенесших COVID-19 имели случаи новой коронавирусной инфекции в семье; среди не переболевших таких случаев было 38,1%.

Следующий моментом исследования являлось выявления эффективности основных средств индивидуальной защиты. Результаты представлены в таблице 1.

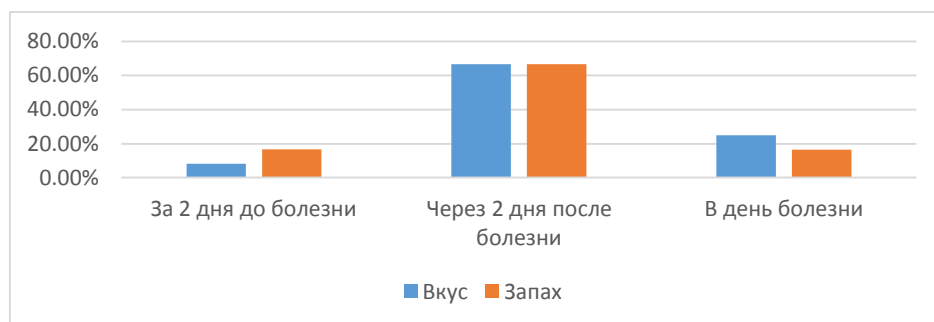


Рис.1. Время исчезновения вкуса и запаха при развитии COVID-19

Далее мы выяснили в каких сферах деятельности работают респонденты. Так, среди переболевших 66,7% работают в сфере здравоохранения, 25%-безработные и 8,3% работают в сфере образования. Среди не переболевших представлены следующие сферы: 33,3%-здравоохранение, 23,8%-безработные и государственная служба, 4,8%-сферы обслуживания, культуры, образования и индивидуальные предприниматели.

Что касается коллективного иммунитета, то в здравоохранении применяют все основные методы профилактики COVID-19: наличие антисептиков, обработка хлорсодержащими дезинфектантами и наличие рециркуляторов. Такие же условия были созданы и в сфере государственного управления. В сфере образования отсутствуют какие-либо методы профилактики, в сфере культуры имеются рециркуляторы, в сфере обслуживания проводится уборка хлорсодержащими средствами и наличие антисептиков, а при работе с индивидуальным предпринимателем имеются только антисептики.

Таблица 1

Средства защиты в двух группах

Средство защиты	Переболевшие	Не переболевшие
Одноразовая маска	91,7%	95,2%
Антисептики	83,3%	92,5%
Проезд в общественный транспорте (скученность людей)	75%	61,9%
Социальная дистанция в 1,5м	75%	52,4%
Прививка от гриппа	16,7%	28%

В исследовании мы учитывали мытье рук в трех случаях: каждый контакт с людьми, посещение улицы и любая работа (возможны комбинации). Данные по мытью рук среди респондентов представлены на рисунке 2. Большая часть людей-76,2%-используют обычное мыло без антибактериального эффекта и пользования антисептиком.



Рис.2. Основные причины мытья рук среди респондентов

Закключение. Проведенное исследование показало, что такие методы профилактики COVID-19, как одноразовые маски и социальная дистанция не являются основополагающим в профилактике заражения. Наиболее эффективными методами предотвращения являлись передвижение на личном транспорте (избегание скученности людей), мытье рук (в большинстве своем обычным туалетным мылом) и коллективная профилактика на рабочих местах. Потеря вкуса и запаха при COVID-19 напрямую зависела соблюдения профилактических мероприятий: одноразовые маски, отсутствие антисептиков и езда в общественном транспорте ускоряли появление anosмии и агезии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Xiao J, Shiu E.Y. Nonpharmaceutical Measures for Pandemic Influenza in Nonhealthcare Settings-Personal Protective and Environmental Measures // Emerging Infectious Diseases. – 2020. – №26(5).– P. 967–975.
2. MacIntyre CR, Wang Q, Seale H A randomized clinical trial of three options for N95 respirators and medical masks in health workers // Am J Respir Crit Care Med. – 2013. - 187(9). – P. 960–966.

УДК 615.2

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ КАК ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ СТРАТЕГИЯ
СТИМУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ СПЕРМАТОГЕННОЙ ТКАНИ**В.А. Григорьева

Научный руководитель: профессор, д.б.н. Т.Г. Боровская

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 3, 634028

E-mail: lgrig2@mail.ru**THE USE OF ANTIOXIDANTS AS A PHARMACOLOGICAL STRATEGY OF STIMULATION OF
THE PROCESSES OF SPERMATOGENOUS TISSUE REGENERATION**V.A. Grigorieva

Scientific Supervisor: Prof., Dr.T.G.Borovskaya

Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named E.D. Goldberg, Russia, Tomsk, Lenin

str., 3, 634028

E-mail: lgrig2@mail.ru

Abstract. *In experimental studies carried out on rats of the Wistar population, the use of antioxidant therapy to stimulate the regeneration of spermatogenic tissue after damage by paclitaxel was investigated. It was found that para-tyrosol was highly effective in restoring the regenerative capabilities of spermatogenic tissue.*

Введение. Последние десятилетия характеризуются беспрецедентным возрастанием случаев мужского бесплодия [1]. У половины (50%) бездетных пар бесплодие связано с «мужским фактором». Рост мужского бесплодия обусловлен многими причинами, в том числе негативными воздействиями, повреждающими мужские половые клетки на разных стадиях развития. В сперматогенной ткани регенерация возможна, ее основой является стволовая сперматогонияльная клетка. Но репаративная регенерация внутри отдельного семенного канальца ограничена количеством клеток микроокружения, которые в зрелой ткани утрачивают способность к делению, и, как следствие, восстановлению пула сперматогоний в канальце [2]. На сегодняшний день существует ряд работ, указывающих на роль окислительного стресса в развитии мужского бесплодия и блока пролиферации сперматогониев. Предполагается, что нормализация про-/антиоксидантного баланса в тестикулярной ткани может приводить к восстановлению активности источников сперматогенеза. В связи с этим, обоснованным видится использование антиоксидантных препаратов в качестве стимуляторов процессов регенерации сперматогенной ткани. К наиболее перспективным антиоксидантам относят фенольные соединения, одним из которых является пара-тирозол. Установлено, что в его присутствии происходит торможение окисления за счет прямого взаимодействия с пероксильным радикалом [3]. Также было показано, что пара-тирозол, как антиоксидант препятствует усилению перекисного окисления липидов в клеточной мембране [4] и уменьшает расход основного эндогенного антиоксиданта – α -токоферола.

Целью данной работы явилось экспериментальное изучение эффективности использования антиоксидантной терапии пара-тирозолом в качестве стимулятора процессов репаративной регенерации ткани семенника в условиях повреждения сперматогониев цитостатическим препаратом.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проведены на 80 аутбредных крысах-самцах, массой 250-300 г. Повреждение створчатых сперматогоний моделировали однократным внутривенным введением в максимально переносимой дозе цитостатического препарата паклитаксел (Митотакс, Dr. Reddy's, Индия). В качестве модели антиоксидантного воздействия был выбран полифенольный синтетический препарат пара-тирозол – его вводили 5 дней до и 5 дней после цитостатического воздействия, в дозе 7,6 мг/кг. Через 3 месяца, в срок, соответствующий проявлению негативного воздействия цитостатического препарата на сперматогонии, оценивали состояние сперматогенеза и репаративной регенерации семенников по показателям количества сперматогоний, клеток микроокружения, степени зрелости сперматогенного пласта [5], общего количества половых клеток (ОКС). Методом хемилюминесценции определяли про-/антиоксидантный статус семенников, также методом щелочного гель-электрофореза оценивали уровень их ДНК-повреждений. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием непараметрического U-критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

Результаты. Судя по общему количеству зрелых половых клеток (ОКС) в эпидидимисе, на фоне введения паклитаксела продуктивность сперматогенеза снизилась на 30% от фонового значения (Рис.1,г). Количество сперматогоний сократилось на 40 % (Рис.1,а), а клеток Сертоли – на 62,2 % (Рис.1,б) по сравнению со значениями фона. При определении степени зрелости сперматогенного пласта было установлено, что в семенниках крыс, получавших цитостатик, несмотря на невысокое содержание клеток Сертоли, идет обновление ткани семенника. Об этом свидетельствует достоверно более низкий (на 8 %), чем у фона, показатель степени зрелости сперматогенного пласта. Про-/антиоксидантный баланс сперматогенной ткани оказался в 7 раз ниже фонового. Также было отмечено увеличение ДНК-повреждений в клетках.

На фоне совместного введения паклитаксела и пара-тирозола продуктивность сперматогенеза достигала значений фоновой группы (Рис.1,г), численность сперматогоний возрастала на 23 % (Рис.1,а), клеток Сертоли - на 71,4 % (Рис.1,б) по сравнению с таковыми в группе контроля. Степень зрелости сперматогенного пласта оказалась сниженной по сравнению с фоновыми и контрольными значениями (Рис.1,в). Про-/антиоксидантный баланс достоверно возрастал по сравнению с контролем и практически достигал значений фоновой группы. Уровень ДНК-повреждений был достоверно ниже (на 36 %), чем в контрольной группе.

Заключение. Установлено, что в отдаленные сроки после введения паклитаксела, наблюдается, судя по числу сперматогоний – дефицит пролиферативного пула, судя по ОКС – недостаточность продуктивности сперматогенеза. В то же время идут процессы репаративной регенерации на уровне ткани в целом (степень зрелости сперматогенного пласта снижена). Однако их интенсивность невысока, судя по количеству сперматогоний и ОКС. Кроме того, наблюдаются признаки окислительного стресса в тестикулярной ткани, и увеличение количества ДНК-повреждений в ней.

На фоне коррекции пара-тирозолом, выявлено восстановление численности клеточной популяции сперматогоний и продуктивности сперматогенеза. Кроме того, пара-тирозол стимулировал восстановление про-/антиоксидантного баланса и снижал количество ДНК-повреждений в семеннике.

Таким образом, антиоксидантный препарат пара-тирозол является перспективным средством стимуляции процессов регенерации сперматогенной ткани.

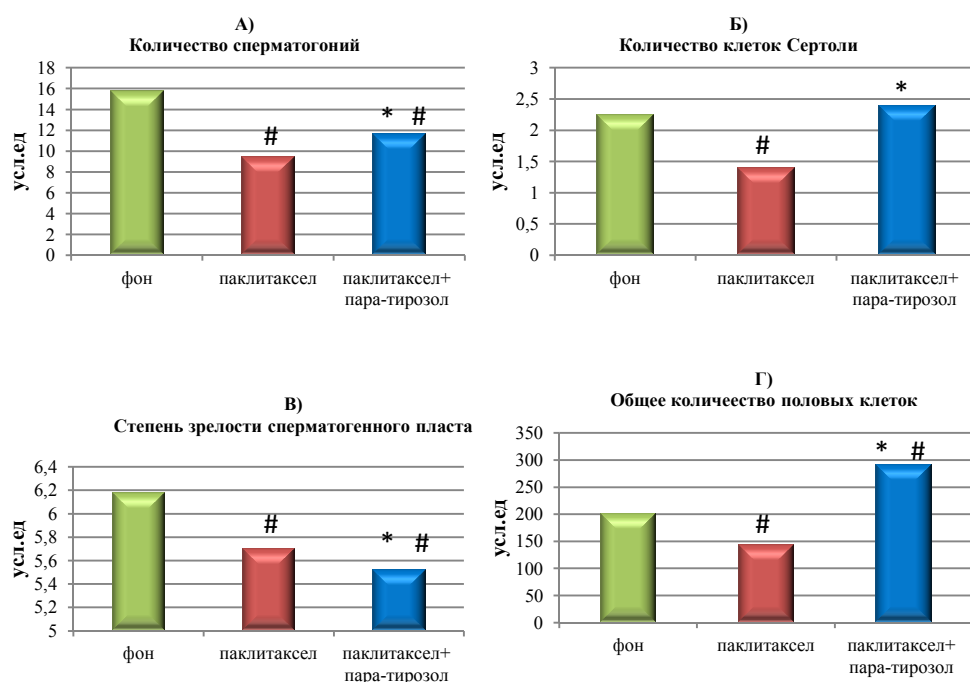


Рис.1. Состояние сперматогенеза крыс через 3 мес. после сочетанного введения паклитаксела и пара-тирозола

Примечание:

- # - статистическая значимость различий по сравнению с фоном ($p \leq 0,05$);
* - статистическая значимость различий по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Punab M., Poolamets O., Paju P., Vihlajev V., Pomm K., Ladv R., Korrovits P., Laan M. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts // Human Reproduction. – 2017. – № 1. – P. 18–31.
2. Рак и репродукция / Под ред. А.А. Параконной. – М.: Галеон, 2012. – 208 с.
3. Голубева И.В. Механизмы кардиопротекторного действия и параметры фармакокинетики п-тирозола : дис. ... канд. мед. наук. – Томск, 2007. – с.124.
4. Сторожок Н.М. Гуреева Н.В., Крысин А.П., Далюхина Е.Н., Долгих М.П., Попова Л.П. // Хим.-фарм. журн. – 2002. – Т. 36, №2. – С. 14–18.
5. Сухоруков В.С., Шамшад Д.Е. Определение степени зрелости сперматогенного пласта крысы при его регенерации и в процессе созревания интактного семенника // Арх. анат., гист. и эмбриологии. – 1989. – № 9. – С. 89–91.

УДК: 618.19–006.6575.113.1

ИССЛЕДОВАНИЕ СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ ГЕНА *PIK3CA* У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Д.С. Долгашева, К.А. Гаптулбарова, М.М. Цыганов

Научный руководитель: к.н.б., с.н.с. М.М. Цыганов

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр РАН,

Россия, г. Томск, пер. Кооперативный 5, 634009

E-mail: normikus.18.97@gmail.com

INVESTIGATION OF SOMATIC *PIK3CA* GENE MUTATIONS IN BREAST CANCER PATIENTS

D.S. Dolgasheva, K.A. Gaptulbarova, M.M. Tsyganov

Scientific Supervisor: researcher, PhD M.M. Tsyganov

Research Institute of Oncology, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences,
Russia, Tomsk, Tomsk, Ln. Cooperative 5, 634009

E-mail: normikus.18.97@gmail.com

Abstract. Mutations of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway occur in 70% of all breast cancers and represent a clinically useful marker for disease prognosis and patient management. The aim of this work was to study the main somatic PIK3CA gene mutations in breast cancer patients and the search for a relationship with the main clinical and pathological characteristics and the effect of NAC. Materials and methods. The study involved 29 patients with luminal B breast cancer. DNA was isolated from samples of tumor tissue before and after treatment using the QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). Samples were prepared for sequencing by amplification with primers containing TruSeq index and adapter sequences (Illumina, USA) using Encyclo polymerase. Results. We found 5 different somatic changes in 28% of patients: c.3140A> G (p.His1047Arg), c.3140A> T (p.His1047Leu), c.1624G> A (p.Glu542Lys), c.1633G> A (p.Glu545Lys), c.3145G> C (p.Gly1049Arg). The group of patients with mutations, 50% of patients showed PIK3CA gen amplifications. The c.3140A> T (p.His1047Leu) mutation was associated with low disease-free survival rates. PIK3CA gene mutations were observed in 38% of patients with HER2-subtype breast cancer, and metastatic-free survival rates were, on average, 1.5 times higher than in patients with normal gene state.

Введение. Фосфоинозитид-3-киназа (PI3K) – это семейство трех различных классов липидкиназ, которое участвует в процессах роста и выживания клеток при различных типах рака молочной железы (РМЖ) и входит в сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR [1]. Данный путь отвечает за уход клетки от апоптоза, рост, пролиферацию клеток и метаболизм. Около 60% опухолей имеют мутации, приводящие к гиперактивации этого сигнального пути и, впоследствии, развитию опухоли [2]. Соматические мутации в генах, кодирующих компоненты пути PI3K, встречаются более чем в 70%. Наиболее распространенным механизмом патологической активации каскадного пути PI3K/AKT/mTOR является мутация или амплификация гена *PIK3CA*, которая приводит к онкогенезу РМЖ и резистентности опухоли [3, 4]. В настоящее время считается, что наличие мутаций в гене *PIK3CA* при раке молочной железы

ассоциировано с более благоприятным прогнозом и менее агрессивными формами течения заболевания, люминальными формами, положительными по гормональным рецепторам (ГР+) и негативными по рецепторам эпидермального фактора роста (HER2-).

Целью данной работы явилось исследование основных соматических мутаций гена *PIK3CA* в опухоли пациентов с диагнозом рак молочной железы и поиск связи с основными клинико-патологическими характеристиками и эффектом неоадьювантной химиотерапии (НХТ).

Материалы и методы. В исследование было включено 29 больных с люминальным В РМЖ IА–IIIВ стадии, с морфологически верифицированным диагнозом, в возрасте 27–66. Всем больным назначались 4–6 курсов неоадьювантной химиотерапии. После НХТ пациентам проводилась операция, затем 2 курса адьювантной химиотерапии, лучевая терапия и/или гормональное лечение назначались по показаниям.

Материалом для исследования служили биопсийные опухолевые образцы до лечения (объемом ~10 мм³) и операционные образцы после НХТ (объемом ~30–90 мм³). Образцы опухоли помещали в раствор RNeasy Lysis Buffer (Qiagen, USA) и сохраняли при температуре 80°C (после 24-часовой инкубации при +4°C) для дальнейшего выделения ДНК. ДНК выделяли из 30 образцов опухолевой ткани с помощью набора QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). Микроматричный анализ проводили на микроматрицах (ДНК-чипах) высокой плотности фирмы Affymetrix (USA) CytoScan™ HD Array. Процедуры пробоподготовки, гибридизации и сканирования проводили в соответствии с протоколом производителя на системе Affymetrix GeneChip® Scanner 3000 7G (Affymetrix, USA). Для обработки результатов микрочипирования использовали программу «Chromosome Analysis Suite 4.3» (Affymetrix, USA). ПЦР-амплификацию проводили с использованием полимеразы Encyclo (Евроген) в соответствии с рекомендациями производителя. Далее проводили подготовку образцов к секвенированию путем амплификации с праймерами, содержащими индексные и адаптерные последовательности TruSeq (Illumina, США) с использованием полимеразы Encyclo. Концентрацию ДНК определяли набором dsDNA broad range Assay kit, образцы эквимольно смешивали и секвенировали на платформе MiSeq (Illumina). Статистические методы. Картирование и выравнивание секвенсов прочтений на референсный геном человека сборки Ensembl GRCh37 проводился с помощью BWA-MEM. Сортировка и индексирование картированных прочтений проходила в программе SamTools. Для поиска вариантов нуклеотидных последовательностей применялись программы VarDictJava и FreeBayes. Аннотирование проводилось с помощью программы snpEff.

Результаты. На первом этапе работы при помощи микроматричного исследования было оценено состояние геномного баланса в хромосомном регионе q26.2, содержащего ген *PIK3CA*. В 8 образцах (28%) был детектирован аллельный дисбаланс, с последующей идентификацией у 2 пациентов делеции гена *PIK3CA* и амплификации у 6 пациентов. Для более детального анализа в сформированной выборке больных был проведен скрининг образцов на наличие наиболее распространенных мутаций (p.E542K c.1624G>A, p.E545K c.1633G>A, p.H1047R c.3140A>G, p.H1047L c.3140A>T) в гене *PIK3CA*. Было проанализировано 58 опухолевых образцов как до, так и после проведения НХТ от 29 больных люминальным В РМЖ, в качестве контроля (на отсутствие изменений в исследуемом гене) использовалась кровь от каждого пациента. Полученные результаты указаны в Таблице 1. Наиболее распространенной мутацией среди изученной группы являлась патогенная однонуклеотидная замена в позиции 178952085, которая может быть в двух вариантах: c.3140A>G (p.His1047Arg) и c.3140A>T

(p.His1047Leu). Мутация с.3140A>G обнаружена у 4х пациентов (А1, К1, К2, Ш1) с хорошим ответом на проводимую терапию. Безметастатическая выживаемость у данных пациентов в среднем составила 43,5 месяца (от 32 до 70 месяцев). КА мутация гена с.3140A>Т была обнаружена лишь у одной пациентки К3, у которой наблюдался рецидив заболевания спустя 22 месяца, несмотря на высокую эффективность проведенной химиотерапии. Мутации сохранялись так же и после проведения химиотерапии, кроме одного случая. У пациентки Д1 с частичной регрессией заболевания (ответ на НХТ 94%) наблюдалась полная элиминация патогенной мутации с.1633G>А (p.Glu545Lys).

Таблица 1

Найденные мутации гена *PIK3CA* в выборке больных

Пациент	Мутация	Тип	Состояние гена <i>PIK3CA</i>
А1	с.3140A>G (p.His1047Arg)	Патогенная	Амплификация
В1	с.1624G>A (p.Glu542Lys)	Патогенная	Амплификация
Д1	с.1633G>A (p.Glu545Lys)	Патогенная	Делеция
Д2	с.3145G>C (p.Gly1049Arg)	Условно патогенная	Норма
К1	с.3140A>G (p.His1047Arg)	Патогенная	Амплификация
К2	с.3140A>G (p.His1047Arg)	Патогенная	Амплификация
К3	с.3140A>Т (p.His1047Leu)	Патогенная	Норма
Ш1	с.3140A>G (p.His1047Arg)	Патогенная	Норма

Все пациенты были проанализированы на связь наличия эстрогеновых рецепторов, а также эпидермального фактора роста с мутациями гена *PIK3CA*. Вне зависимости от наличия гормональных рецепторов, пациенты с HER2- подтипом РМЖ имели более высокую частоту наличия мутаций в гене *PIK3CA* в сравнении с группой HER2+ РМЖ (р = 0.0265). При дальнейшем исследовании группы больных с HER2- подтипом РМЖ было установлено, что у 38% (7/18 больных) пациентов наблюдались мутации в гене *PIK3CA*, при этом показатели безметастатической выживаемости были в среднем в 1,5 раза выше, чем у пациентов с нормальным состоянием гена (40 против 26,5 месяцев). У 4/18 больных развились метастазы. У двух пациентов с отсутствием мутаций (С1, Р1) в исследуемом гене метастазы развились через 11 и 17 месяцев. В то время как у пациентки К3 с мутацией с.3140A>Т метастазы развились спустя 22 месяца, а у пациентки Д2 с мутацией с.3145G>С через 72 месяца.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Goncalves M.D., Hopkins B.D., Cantley L.C. Phosphatidylinositol 3-kinase, growth disorders, and cancer // New England Journal of Medicine. – 2018. – Vol. 379., № 21. – P. 2052-62.
2. Engelman J.A. Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations // Nature Reviews Cancer. – 2009. – Vol. 9., №8 – P. 550-62.
3. Arafteh R., Samuels Y. PIK3CA in cancer: The past 30 years // Seminars in cancer biology. – 2019. – Vol. 59. – P. 36-49.
4. Engelman J.A., Luo J., Cantley L.C. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism // Nature Reviews Genetics. – 2006. – Vol. 7., №8 – P. 606-19.

УДК 581.192

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЛИСТЬЕВ
И ДРЕВЕСИНЫ ПАВЛОВНИИ**Ю.Н. Зиновьева

Научный руководитель: доцент, к.х.н. Ю.С. Шимова, к.х.н. Е.В. Лис

Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М. Ф. Решетнева

Россия, г. Томск, пр. Ленина 3, 634028

E-mail: missiulia201299@icloud.com**THE COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN
LEAVES AND WOOD OF PAULOWNIA**J. N. Zinovieva

Scientific supervisor: Ph.D. J. S. Shimova, Ph.D. E.V. Lis

Siberian State University of Science and Technology named after Academician M. F. Reshetnev, Russia, Tomsk,

Lenin Str., 3, 634028

E-mail: missiulia201299@icloud.com

Abstract. *The paper presents the results of determination and comparative analysis of biologically active substances from various parts of Paulownia. The experiments were conducted according to the methods adopted in chemistry of plant raw materials. In the course of the study, the qualitative and quantitative composition of some biologically active substances was determined assumptions were made about the role of these substances, as well as of the further research and the possibility of their practical application.*

Введение. Биологически активные вещества (БАВ) – химические вещества, обладающие при небольших концентрациях высокой физиологической активностью по отношению к определённым группам живых организмов (в первую очередь - по отношению к человеку, а также по отношению к растениям, животным, грибам и пр.) или к отдельным группам их клеток. Физиологическая активность веществ может рассматриваться как с точки зрения возможности их медицинского применения, так и с точки зрения поддержания нормальной жизнедеятельности человеческого организма либо придания группе организмов особых свойств [1].

Основным источником биологически активных веществ традиционно считается местное растительное сырьё. В условиях Сибири таким сырьём являются хвойные древесные растения, которые широко используются для получения витаминных препаратов [2], однако их возобновление занимает десятки лет, поэтому в настоящее время уделяется большое внимание изысканию новых быстрорастущих видов растительного сырья для химической и биохимической переработки. В современных экономических условиях необходимость в дешёвом, легко возобновляемом, устойчивым к вредителям растении, с достаточно богатым содержанием биологически активных веществ, актуальна как никогда. К числу таких перспективных сырьевых источников относится – Павловния. Многочисленными исследованиями ранее было установлено, что это быстрорастущее неприхотливое древесное растение, родом из Китая, которое широко используется как источник биологически активных веществ в фармацевтической, косметической

промышленности, народной медицине, а также в животноводстве [3, 4]. Однако, до сих пор, ареал ее распространения ограничивается европейской частью [5, 6].

Экспериментальная часть. Для исследования отбор сырья был осуществлен с образцов, выращенных из семян в СибГУ им. М.Ф. Решетнева. Собранные древесина и листья отбирались путем квартования, перемешивались и измельчались. Определение биологически активных веществ, содержащихся в образцах, проводили с использованием методик, принятых в биохимии и химии растительного сырья [7].

Для выделения биологически активных веществ были проведена экстракция исходного сырья древесины и древесной зелени следующими растворителями: гексан, спирт этиловый (96 %), спирт этиловый (50% водный раствор), вода. Выбор экстрагента осуществляли в зависимости растворимости биологически активных веществ в различных растворителях на основании литературных данных [2]. В полученных экстрактах проводили определение содержания белков, аминокислот, полифенольных соединений, пигментов, витаминов.

Результаты. Общее содержание экстрактивных веществ в листьях и древесине Павловнии составило около 60 и 20 % соответственно, что свидетельствует о биологической ценности исследуемого сырья. Содержание белка в листьях составило около 18 %, в древесине – около 3 % свободных аминокислот в древесине составило около 0,5 %, в листьях – около 2 %. Исследование качественного состава аминокислот, содержащихся в древесной зелени, показывает наличие практически всех аминокислот, необходимых для получения идеального корма. Отмечается, что наиболее высокое содержание белка и свободных аминокислот в листьях наблюдается в период активного роста растения. Полученные результаты в целом согласуются с литературными данными [3, 4, 8] и свидетельствует о возможности рекомендации использовать древесную зелень в качестве источника азота в животноводстве.

Содержание витаминов в древесине и древесной зелени Павловнии, представлено в таблице 1.

Таблица 1

Содержание витаминов в древесине и древесной зелени

Витамины	Древесина	Древесная зелень
В ₁ (тиамин)	+	+
В ₆ (пиридоксин)	+	+
С (аскорбиновая кислота)	+	+
Е (токоферол)	-	+
К	-	+
Р (биофлавоноиды)	-	+
А (каротин)	+	+

Исходя из представленных данных можно сделать вывод о том, что древесная зелень может полноценно использоваться для создания витаминной муки, как источник необходимых витаминов, аминокислот, белков.

Достаточно высокое содержание полифенольных соединений, в древесной зелени, около 10 %, свидетельствует о том, что данное растение можно рассматривать как источник для получения препаратов с ярко выраженной антимикробной и противовоспалительной активностью.

Несмотря на достаточно низкое содержание биологически активных веществ, содержащихся в древесине по сравнению с древесной зеленью, полученные результаты позволяют предположить возможность комплексного использования древесины и древесной зелени для получения полноценной

кормовой добавки. Многочисленными исследованиями установлено, что древесина Павловнии, характеризуется высокой огнестойкостью, хорошими тепло- и звукоизоляционными свойствами и поэтому широко используется в строительстве [6, 9], однако, высокая скорость роста растения, а также высокое содержание целлюлозы позволяет рассматривать ее как предполагаемое сырье для целлюлозной промышленности, кроме того, в ряде стран выращивают целые плантации Павловнии, используемые в качестве сырья для получения биотоплива [4].

Закключение. Количество биологически активных веществ как в древесине, так и в древесной зелени зависит от многих факторов, таких как возраст дерева, условия произрастания, время отбора проб, полученные результаты подтверждают тот факт, что Павловния является уникальным растением, содержащим большое количество ценных компонентов. Однако, несмотря на все возрастающий интерес, исследования носят фрагментарный характер и для возможности рекомендации использования данного растения в качестве источника сырья в различных отраслях промышленности необходимы дальнейшие исследования.

Участие в XVIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук» поддержано Красноярским краевым фондом науки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биологически активные вещества [Электронный ресурс]. – Режим доступа: – URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/Биологически_активные_вещества (дата обращения 02.01.2021).
2. Степень Р.А., Воронин В.М., Соболева С.В. Биологически активные вещества древесной зелени пихты и область их применения // Хвойные бореальной зоны. – 2017. – Т. 35, № 3-4. – С. 120-124.
3. Al-Sagheer A.A., Abd El-Hack M.E., Alagawany M. and etc. Paulownia leaves as a new feed resource: chemical composition and effects on growth, carcasses, digestibility, blood biochemistry, and intestinal bacterial populations of growing rabbits // MDPI Journal Animals. – 2019. – № 9. – P. 1-13.
4. Павловния Россия. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: – URL: <https://www.paulownia-russia.com/about-paulownia> (дата обращения 02.01.2021).
5. El-Showk S., El-Showk N. The Paulownia tree an alternative for sustainable forestry // Ain El Aouda : Crop Development. – 2003. – P. 9.
6. Pontaza-Licon Y.S., Ramos-Jacques A.L., Cervantes-Chavez J.A., LuisLópez-Miranda J. and etc. Alcoholic extracts from Paulownia tomentosa leaves for silver nanoparticles synthesis // Results in Physics. – 2019. – Vol. 12, № 4. – P. 1670-1679.
7. Ушанова В.М., Лебедева О.И., Девятловская А.Н. Основы научных исследований. Исследование химического состава растительного сырья. – Красноярск: СибГТУ, 2004. –С. 360.
8. Ganchev G., Ilchev A., Koleva A. Digestibility and energy content of Paulownia (Paulownia elongata S.Y.Hu) leaves // Agricultural science and technology. – 2019. – Vol. 11, № 4. – P. 307-310.
9. Koleva A., Dobрева K., Stoyanova M., Denev P. and etc. Paulownia – a source of biologically active substances. Amino acid composition of leaves // Journal of Mountain Agriculture on the Balkans. – 2011. – Vol. 14, № 5. – P. 54- 62.

УДК 618.19-006.04-033.2:611-018.5:615.28

**ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПРОЦЕССЕ
НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ: СВЯЗЬ С ГЕМАТОГЕННЫМ
МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ**

М.К. Ибрагимова, М.М. Цыганов

Научный руководитель: д.б.н., Н.В. Литвяков

Томский национальный исследовательский медицинский центр, РАН,

Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, 634050

E-mail: imk1805@yandex.ru

**WHOLE TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF BREAST TUMOR DURING NEOADJUVANT
CHEMOTHERAPY: CORRELATION TO HEMATOGENOUS METASTASIS**

M.K. Ibragimova, M.M. Tsyganov

Scientific Supervisor: Ph D. N.V. Litviakov

Tomsk National Research Medical Center of Russian Academy of Sciences, Kooperativny str. 5, Tomsk,

634050, Russia,

E-mail: imk1805@yandex.ru

Abstract. *To date, there are very few data in the literature comparing the expression profile of patients diagnosed with breast cancer (BC) during preoperative treatment. As a rule, research in this direction concerns precisely the molecular profiling of the tumor during treatment. Moreover, no publications were found in which the issue of changing the expression profile of patients with breast cancer, depending on the status of hematogenous metastasis during neoadjuvant chemotherapy (NAC), would be discussed. In this regard, it seems relevant to carry out a transcriptome analyses of a breast tumor in the process of NAC, depending on the presence/absence of hematogenous metastasis.*

Введение. На сегодняшний день в литературе крайне малочисленны данные по сравнению экспрессионного профиля пациенток с диагнозом рак молочной железы (РМЖ) в процессе проведения предоперационного лечения. Как правило, исследования в данном направлении затрагивают именно молекулярное профилирование опухоли в процессе лечения. Так, работа по исследованию изменения генетического ландшафта трижды негативного РМЖ после неоадьювантной химиотерапии (НХТ), где при оценке мутационных аллелей и CNA показано увеличение количества копий членов семейства *AKT* и *CCND* и генов *MYC* и *MCL1* [1]. В работе Loibl S. методом NGS проведено комплексное исследование молекулярных событий при РМЖ (n=851), оценена значимость геномных изменений для ответа на НХТ. Панель исследования включала 16 генов для анализа мутаций (*AKT1*, *BRAF*, *CDH1*, *EGFR*, *ERBB2*, *ESR1*, *FBXW7*, *FGFR2*, *HRAS*, *KRAS*, *NRAS*, *SF3B1*, *TP53*, *HNFI1A*, *PIK3CA*, *PTEN*) и 8 генов для анализа изменения числа копий (*CCND*, *ERBB2*, *FGFR1*, *PAK1*, *PIK3CA*, *TOP2A*, *TP53*, *ZNF703*). Показано, что наиболее распространенными геномными изменениями в процессе НХТ были мутации *TP53* (38,4%), *PIK3CA* (21,5%) и 8 амплификаций (*TOP2A* 34,9%; *ERBB2* 30,6%; *ZNF703* 30,1%; *TP53* 21,9%; *PIK3CA* 24,1%; *CCND1* 17,7%; *PAK1* 14,9%; *FGFR* 12,6%) [2].

Целью представленного исследования явилось проведение полнотранскриптомного анализа опухоли молочной железы в процессе НХТ в зависимости от статуса гематогенного метастазирования.

Материал и методы. В исследование включены 60 больных РМЖ T1-4N0-2M0 (IIA–IIIB стадии) люминального В HER2-негативного подтипа, в возрасте 22–68 лет (средний $46,2 \pm 0,4$ лет). Пациенты получали 4-8 курсов системной НХТ по схемам FAC, AC, CAH, CP, ACT и AT. Материалом для исследования служили парные образцы биопсийного (до лечения) и операционного материала (после НХТ) для каждого из пациентов. РНК из исследуемого материала выделена набором RNeasy mini kit plus (Qiagen, Germany). Полнотранскриптомный микроматричный анализ проводился на микрочипах Clariom™ S Assay, human (ThermoFisher Scientific, USA). Анализ данных осуществлялся при помощи программы Transcriptome Analysis Console (TAC) software 4.0.

Результаты. Проведено сравнение экспрессионного профиля пациенток с РМЖ в зависимости от наличия/отсутствия гематогенного метастазирования до и после проведения НХТ. Было показано, что количество дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ) в опухоли до лечения у больных с наличием и без гематогенного метастазирования составило 24 гена (19 Up-regulated, 5 Down-regulated). После проведения НХТ резидуальные опухоли больных с наличием и без гематогенного метастазирования различались по 154 ДЭГ (36 Up-regulated, 118 Down-regulated) (Рис. 1а, б).

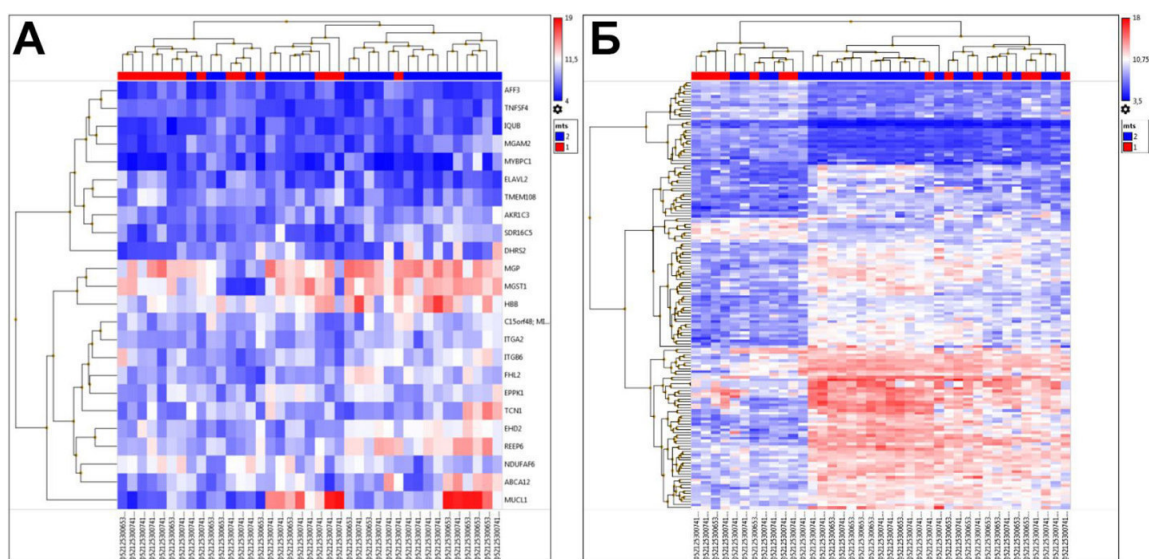


Рис. 1. Тепловая карта ДЭГ в опухоли больных РМЖ: а - до лечения с наличием гематогенного метастазирования (есть - 1) и отсутствием гематогенного метастазирования (нет - 2), б - после НХТ с наличием гематогенного метастазирования (есть - 1) и отсутствием гематогенного метастазирования (нет - 2)

Построение диаграммы Венна показало, что ДЭГ у пациентов с наличием/отсутствием гематогенного метастазирования до лечения и после НХТ пересекаются всего по 1 гену - *EHD2* (19q13.33) (Рис. 2).

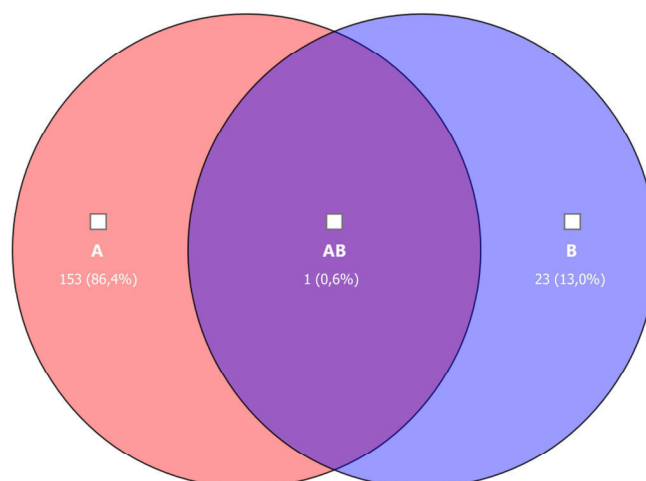


Рис.2. Диаграмма Венна по пересечению ДЭГ у пациентов с наличием и отсутствием гематогенного метастазирования до лечения и после НХТ

Повышение экспрессии *EHD2* наблюдается в образцах серозного рака яичников [3]. Также *EHD2* признан прогностическим параметром для плоскоклеточного рака пищевода (РП) - экспрессия данного гена вовлечена в его патогенез [4], и может рассматриваться в качестве фактора прогрессирования для пациентов с РМЖ – он является негативным регулятором миграции и инвазии в клетках РМЖ [5].

Вывод. Проведено сравнение экспрессионного профиля пациенток с РМЖ в зависимости от наличия/отсутствия гематогенного метастазирования до и после проведения предоперационной химиотерапии.

Работа выполнена в рамках конкурса 2021-2023 года на получение стипендии Президента РФ молодым ученым и аспирантам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Balko J.M., Giltane J.M., Wang K., et al. Molecular profiling of the residual disease of triple-negative breast cancers after neoadjuvant chemotherapy identifies actionable therapeutic targets // *Cancer discovery*. – 2014. – 4(2). – P. 232-45.
2. Loibl S., Treue D., Budczies J., et al. Mutational diversity and therapy response in breast cancer-a sequencing analysis in the neoadjuvant GeparSepto trial // *Clinical Cancer Research*. – 2019. – 25(13). – P. 3986-3995.
3. Bignotti E., Tassi R.A., Calza S., et al. Differential gene expression profiles between tumor biopsies and short-term primary cultures of ovarian serous carcinomas: identification of novel molecular biomarkers for early diagnosis and therapy // *Gynecologic oncology*. – 2006. – 103(2). – P. 405-16.
4. Li M., Yang X., Zhang J., et al. Effects of EHD2 interference on migration of esophageal squamous cell carcinoma // *Medical Oncology*. – 2013. – 30(1). – P. 396.
5. Yang X., Ren H., Yao L., et al. Role of EHD2 in migration and invasion of human breast cancer cells // *Tumor Biology*. – 2015. – 36(5). – P. 3717-26.

УДК 579.61; 616.8-00

**ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА
НА СИНТЕЗ А-СИНУКЛЕИНА В КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ НЕЙРОБЛАСТОМЫ SH-SY5Y**О.П. Иккерт^{1,2}, О.Я. Брикунова², В.А. Петров²¹Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

²Сибирский государственный медицинский университет

Россия, г. Томск, Московский тракт, 2, 634050

E-mail: olia.ikkert@yandex.ru

**DETERMINATION OF THE CYTOTOXIC EFFECT OF MICROORGANISMS ISOLATED
FROM PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE ON THE CELLULAR U251 LINE**O.P. Ikkert^{1,2}, O.Ya. Brikunova², V.A. Petrov²¹Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin Avenue, 36, 634050²Siberian State Medical University, Russia, Tomsk, Moscovsky trakt, 2, 634050

E-mail: olia.ikkert@yandex.ru

Abstract. Parkinson's disease is a chronic neurodegenerative disease caused by the destruction of dopaminergic neurons in the substance of the brain, as well as in other parts of the central nervous system. In this disease, there is a violation of the metabolism of the protein alpha-synuclein and its accumulation in neurons leads to the formation of protein complexes, cytoplasmic Lewy bodies. In vitro, on the SH-SY5Y human neuroblastoma cell line, the effect of different physiological groups of bacteria isolated in enrichment cultures from the microbiome of patients with Parkinson's disease was investigated to increase or decrease the level of α -synuclein expression. Our study showed a positive effect of probiotic cultures containing representatives of the genera *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, in reducing the level of α -synuclein in cultured human neuroblastoma SH-SY5Y. While microorganisms of the genera *Clostridium*, *Tissierella* / *Soehngenia*, *Eggerthella*, on the contrary, increase the expression of this protein and, probably, accelerate the development of the disease and aggravate the symptoms of the disease.

Введение. Болезнь Паркинсона (БП) представляет собой хроническое нейродегенеративное заболевание, вызванное разрушением дофаминэргических нейронов черной субстанции мозга, а также и в других отделах центральной нервной системы [1]. Функции белка альфа-синуклеина до конца еще не изучена, при этом известно его влияние в формировании нейрональной пластичности [2], антимикробной активности [3] и нарушению моторных функций человека. На сегодняшний день причины образования телец Леви до конца не ясны и актуальной является гипотеза о роли микробиоты кишечника [4-6].

В нашем исследовании в условиях *in vitro* на клеточной линии нейробластомы человека SH-SY5Y было показано влияние разных физиологических групп бактерий, выделенных в накопительные культуры из микробиома пациентов с болезнью Паркинсона, в увеличении или снижении уровня экспрессии α -синуклеина.

Экспериментальная часть. Для получения накопительных культур пробы фекалий, пациентов с болезнью Паркинсона, помещали среду Рингера, следующего состава (на 1 литр дистиллированной воды): $MgCl_2 \cdot H_2O$ – 0.11 г; Na_2HPO_4 – 0.53 г; KH_2PO_4 – 0.4 г; NH_4Cl – 0.3 г; $NaCl$ – 0.3 г; $CaCl_2$ – 0.11 г [7]. Первую накопительную культуру получили на среде Рингера с добавлением 10 г триптона и 10 г дрожжевого экстракта (в расчете на 1 литр), pH среды доводили до 7-7,5. Вторую накопительную культуру получали на среде Рингера с добавлением 10 г пептона, 10 г сахарозы, 20 г $NaCl$ (в расчете на 1 литр), pH среды доводили до 5.

Таксономическую принадлежность микроорганизмов в накопительных культурах определяли методом ампликонного секвенирования на приборе MiSeq (Illumina) с использованием набора MiSeq Reagent Kit v2 в режиме 2*150 согласно рекомендациям производителя. С использованием QIIME2 под операционной системой Linux была проведена обработка результатов секвенирования [8].

Анализ белковой экспрессии альфа-синуклеина проводили при сокультивировании клеточной культуры нейробластомы человека SH-SY5Y с двумя накопительными культурами, полученными из микробиома пациента с болезнью Паркинсона. В качестве контроля нейробластома сокультивировали с чистой культурой кишечной палочки, лабораторный штамм *Escherichia coli XL-blue*. Сокультивирование проводили в течение 8 часов в среде MEM/F12 в 6-луночной планшете при 37 °C. Экспрессию альфа-синуклеина определяли методом RT-ПЦР с использованием амплификатора LightCycler 480. Разделение белков выполнено методом SDS-PAGE электрофореза.

Результаты. Для данного исследования из фекалий пациентов с болезнью Паркинсона были выделены две накопительные бактериальные культуры. Первая накопительная культура содержала преимущественно условно-патогенные микроорганизмы, относящиеся к родам *Clostridium* (30,55 %), *Tissierella/Soehngenia* (24,66 %), *Eggerthella* (23,95 %); вторая накопительная культура содержала преимущественно пробиотические бактериальные штаммы, относящиеся к родам *Lactobacillus* (39,62 %), *Enterococcus* (11,21 %), *Bifidobacterium* (10,74 %).

Согласно данным, вестерн-блот анализа уровень экспрессии альфа-синуклеина в отношении экспрессии бета-актина в клетках линии SH-SY5Y без дополнительных стимуляторов составила 84,21%. После инкубации клеточной культуры нейробластомы человека SH-SY5Y с первой накопительной культурой бактерий уровень экспрессии альфа-синуклеина в отношении экспрессии бета-актина увеличился на 63,54%. При сокультивировании со второй накопительной культурой экспрессия возросла незначительно – на 11,78%.

В отношении контрольной группы клеточной линии нейробластомы, культивируемой с чистой культурой *Escherichia coli*, экспрессия альфа-синуклеина увеличивалась на 22 % при сокультивировании нейробластомы человека SH-SY5Y с первой накопительной культурой. В то время как при сокультивировании с первой накопительной культурой, содержащей пробиотические микроорганизмы, экспрессия альфа-синуклеина в клеточной культуре нейробластомы человека SH-SY5Y снижалась на 29 %.

Заключение. Ранее было показано, что микробиота кишечника, в частности отдельные микроорганизмы, оказывает как положительное влияние на процессы экспрессии альфа-синуклеина, например, ингибирует агрегацию альфа-синуклеина [9], так и отрицательное влияние – моделирует патологию болезни Паркинсона [8, 10]. Однако исследование влияния отдельных физиологических групп

не проводилось. В нашем исследовании на модели клеточной линии нейробластомы человека SH-SY5Y показан положительный эффект пробиотических культур, содержащих представителей родов *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*. В то время как микроорганизмы родов *Clostridium*, *Tissierella/Soehngenia*, *Eggerthella*, наоборот, увеличивают экспрессию данного белка и, вероятно, ускоряют развитие заболевания и усугубляют симптомы проявления заболевания.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и администрации Томской области в рамках научного проекта № 18-415-703004, а также Стипендии Президента РФ молодым ученым и аспирантам, осуществляющим перспективные исследования и разработки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Perfeito R., Ribeiro M., Rego A.C. Alpha-synuclein-induced oxidative stress correlates with altered superoxide dismutase and glutathione synthesis in human neuroblastoma SH-SY5Y cells // Arch Toxicol. – 2017. – V. 91 (3). – P. 1245-1259.
2. Böttner M., Fricke T., Müller M., Barrenschee M., Deuschl G., Schneider S.A., Egberts J.H., Becker T., Fritscher-Ravens A., Ellrichmann M., Schulz-Schaeffer W.J., Wedel T. Alpha-synuclein is associated with the synaptic vesicle apparatus in the human and rat enteric nervous system // Brain Res. – 2015. – V. 1614. – P. 51-59.
3. Park S.C., Moon J.C., Shin S.Y., Son H., Jung Y.J., Kim N.H., Kim Y.M., Jang M.K., Lee J.R. Functional characterization of alpha-synuclein protein with antimicrobial activity // Biochem Biophys Res Commun. – 2016. – V. 478 (2). – P. 924-928.
4. Scheperjans F., Aho V., Pereira P.A., Koskinen K., Paulin L., Pekkonen E., Haapaniemi E., Kaakkola S., Eerola-Rautio J., Pohja M., Kinnunen E., Murros K., Auvinen P. Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype // Mov Disord. – 2015. – V. 30(3). – P. 350-358.
5. Keshavarzian A., Green S.J., Engen P.A., Voigt R.M., Naqib A., Forsyth C.B., Mutlu E., Shannon K.M. Colonic bacterial composition in Parkinson's disease // Mov Disord. – 2015. – V. 30 (10). – P. 1351-1360.
6. Петров В.А., Алифорова В.М., Салтыкова И.В. и др. Сравнительный анализ кишечной микробиоты при болезни Паркинсона и других неврологических заболеваниях // Бюллетень сибирской медицины. – 2016. – Т. 15, № 5. – С. 113-125.
7. Derrien M., Vaughan E. E., Plugge C. M., Willem M de Vos. Akkermansia muciniphila gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium // Int J Syst Evol Microbiol. – 2004. – V. 54(5). – P. 1469-1476.
8. Sampson T.R., Debelius J.W., Thron T., Janssen S., Shastri G.G., Ilhan Z.E., Challis C., Schretter C.E., Rocha S., Gradinaru V., Chesselet M.F., Keshavarzian A., Shannon K.M., Krajmalnik-Brown R., Wittung-Stafshede P., Knight R., Mazmanian S.K. Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease // Cell. – 2016. – V. 167(6). P. 1469-1480.e12.
9. Goya M.E., Feng Xue, Sampedro-Torres-Quevedo C., Arnaouteli S., Riquelme-Dominguez L., Romanowski A., Brydon J., Ball K.L., Stanley-Wall N.R., Doitsidou M. Probiotic Bacillus subtilis protects against a-Synuclein aggregation in C. elegans // Cell Reports. – 2020. – № 30. – P. 367–380.
10. Minato T., Maeda T., Fujisawa Y., Tsuji H., Nomoto, K., Ohno K., Hirayama M. Progression of Parkinson's disease is associated with gut dysbiosis: Two-year follow-up study // PLoS ONE. – 2017. – V. 12(11). – P. e0187307.

УДК 571.27

**ПОИСК ПРЕДСКАЗАТЕЛЬНЫХ МАРКЕРОВ ОТВЕТА ОПУХОЛИ НА ЛЕЧЕНИЕ
ПЛАТИНОВЫМИ ПРЕПАРАТАМИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ТОЛСТОЙ КИШКИ И РАКОМ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Е.О. Казакова¹, И.В. Ларионова^{1,2}, М.А. Ракина¹

Научный руководитель: д.б.н, профессор, Ю.Г. Кжышковска

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет

Россия, г.Томск, пр. Ленина 36, 634050

²Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр РАН,

Россия, г.Томск, пер. Кооперативный 5, 634009

E-mail: kazakova.e.o@mail.ru

**THE SEARCH FOR NEW PROGNOSTIC AND PREDICTIVE BIOMARKERS OF TUMOR
RESPONSE TO TREATMENT WITH PLATINUM DRUGS IN PATIENTS WITH COLON CANCER
AND BREAST CANCER**

E.O. Kazakova¹, I.V. Larionova^{1,2}, M.A. Rakina¹

Scientific Supervisor: Ph.D., professor, J.G. Kzhyshkowska

¹Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin Avenue 36, 634050

²Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Russia, Tomsk, Kooperativny Street 5, 634009

E-mail: kazakova.e.o@mail.ru

Abstract. *To date, chemoresistance of tumor cells is a significant problem of modern oncology [1]. Immune cells including tumor-associated macrophages (TAM) were associated with chemotherapeutic effectiveness, promoting or preventing the antitumor effect [2]. Thus, we studied the influence of chemotherapy on TAM in clinical samples from patients with breast cancer and colon cancer with or without chemotherapeutic treatment.*

Введение. В настоящее время развитие резистентности опухолевых клеток к химиотерапевтическому лечению является значимой проблемой современной онкологии [1]. Клетки иммунной системы, в частности, опухолеассоциированные макрофаги (ОАМ), способны влиять на эффективность химиотерапии, способствуя или препятствуя противоопухолевому эффекту [2]. Актуальной является задача изучения роли ОАМ в прогрессии опухолей различной локализаций под воздействием химиотерапии.

Материалы и методы. В данном исследовании было включено 149 больных раком молочной железы (РМЖ) T1-3N0-3M0 и 115 больных раком толстой кишки (РТК) T1-3N0-3M0. Больные разделялись на 3 группы: больные без предоперационного лечения, больные, получавшие до операции неоадьювантную терапию (НАХТ) по схемам, не содержащим препараты платины, и больные, получавшие предоперационную терапию препаратами платины.

Иммуногистохимическое окрашивание (ИГХ) срезов опухолей осуществлялось по стандартной методике. Обработка полученных данных выполнялась с помощью программы «Statistica 8.0».

Результаты. В результате проведенного ранее полнотранскриптомного секвенирования ОАМ в моделях РТК и РМЖ, были выбраны следующие гены с дифференциально значимыми экспрессируемыми транскриптами: MX1, TNFSF10 (TRAIL), CXCL10, IRF7, SPP1, MARCO и далее проанализированы в зависимости от параметров опухолевой прогрессии и ответа опухоли на НАХТ. Было показано, у больных РТК наблюдалась высокая белковая экспрессия сразу нескольких маркеров (MX1, TRAIL, CXCL10, IRF7, SPP1) в группе пациентов, леченных препаратами платины, по сравнению с двумя остальными группами пациентов. У больных РМЖ в группе, получавшей препараты платины в схеме НАХТ, повышенная экспрессия наблюдалась только у гена TRAIL ($2,83 \pm 1,19$ vs $1,62 \pm 0,71$, $p=0,056$) в сравнении с группой, получавшей НАХТ без препаратов платины (Рисунок 1 и 2).

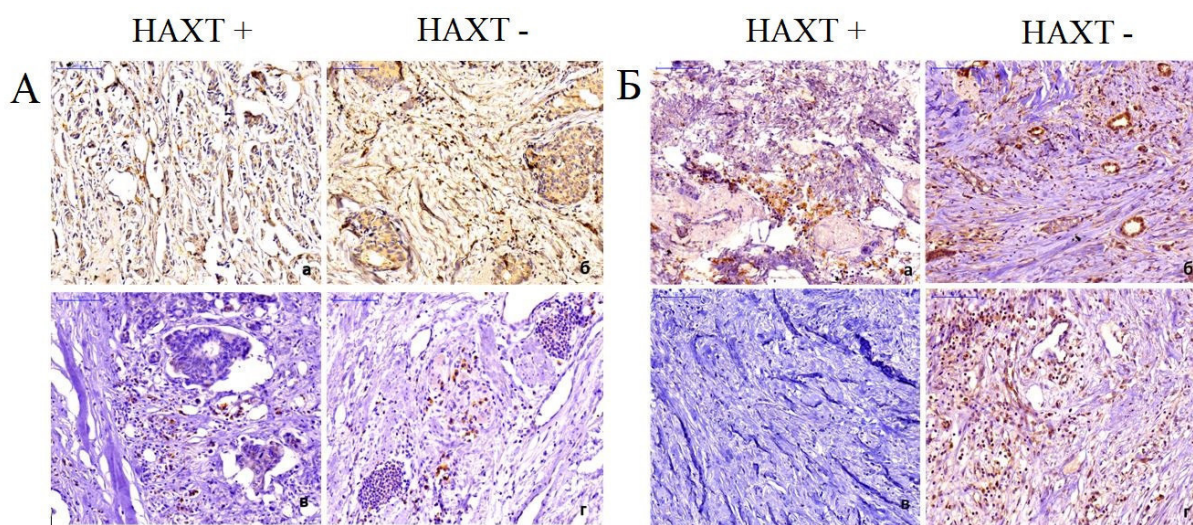


Рис. 1. ИГХ анализ позитивной экспрессии CXCL10 (А) и TRAIL (Б) в воспалительном инфильтрате стромы РМЖ (сверху) и РТК (снизу) в группе больных без НАХТ (-) и с НАХТ (+)

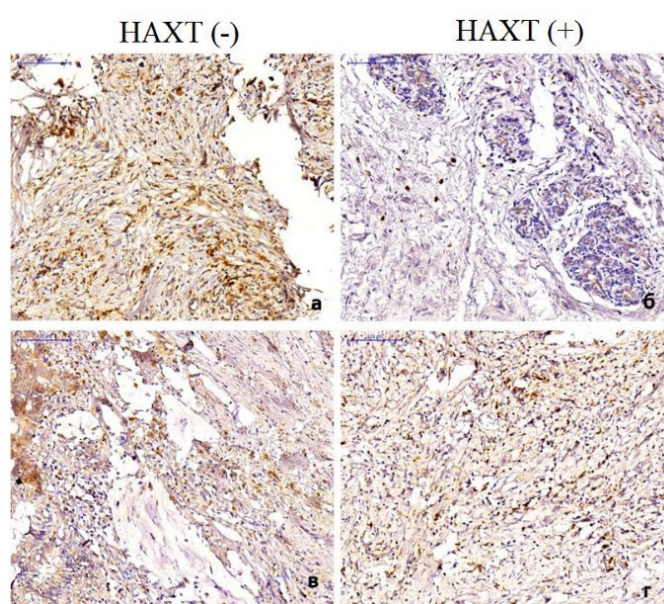


Рис. 2. ИГХ анализ позитивной экспрессии MX1 в воспалительном инфильтрате стромы РМЖ (сверху) и РТК (снизу) в группе больных без НАХТ (-) и с НАХТ (+)

У больных РМЖ в группе, леченной препаратами платины, при наличии лимфогенного метастазирования балл экспрессии TRAIL ($3,42 \pm 0,97$), IRF7 ($3,0 \pm 0,07$) и SPP1 ($2,42 \pm 0,97$) был выше по сравнению со случаями отсутствия лимфогенных метастазов ($2,0 \pm 1,0$, $p=0,03$; $1,6 \pm 0,89$, $p=0,017$ и $1,0 \pm 0,0$, $p=0,031$, соответственно). Более того, в этой же группе пациентов экспрессия TRAIL и SPP1 была выше у пациенток с отсутствием ответа на НАХТ ($4,0 \pm 0,0$ и $2,75 \pm 0,95$) по сравнению с группой пациентов с объективным ответом на лечение ($2,75 \pm 1,25$, $p=0,045$ и $1,0 \pm 0,0$, $p=0,026$, соответственно).

Скавенджер-рецептор M2 макрофагов MARCO практически не экспрессировался в опухолях молочной железы. Также у нелеченых пациенток с РМЖ был обнаружен низкий балл экспрессии MX1 при наличии лимфогенного метастазирования ($1,75 \pm 0,88$, vs. $3,07 \pm 1,26$, $p=0,018$).

У больных РТК наблюдалась тенденция к повышению экспрессии SPP1 в группе нелеченых пациентов с наличием лимфогенных метастазов ($2,67 \pm 1,15$) по сравнению с группой без метастазов ($1,42 \pm 0,53$, $p=0,058$). У леченых больных РТК в группе без лимфогенных метастазов экспрессия MARCO была статистически значимо выше ($3,33 \pm 0,65$ vs. $1,33 \pm 0,57$, $p=0,0076$).

Заключение. Было установлено, что повышенная экспрессия TRAIL, IRF7 и SPP1 в группе больных РМЖ, леченных платиносодержащими препаратами, связана с наличием лимфогенного метастазирования. У леченых пациентов с РТК повышенная экспрессия MARCO ассоциировалась с отсутствием лимфогенных метастазов.

Работа поддержана грантом РНФ №19-15-00151.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zheng H.C. The molecular mechanisms of chemoresistance in cancers // *Oncotarget*. – 2017. – No. 6. – P. 59950.
2. Larionova, I., Tuguzbaeva, G., Ponomareva, A., Stakheeva, M., Cherdyntseva, N., Pavlov, V., Choinzonov, E., & Kzhyshkowska, J. Tumor-associated macrophages in human breast, colorectal, lung, ovarian and prostate cancers // *Front. Oncol.* – 2020. – No. 10. – P. 566511.

УДК 2788

ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЕ ИНДИКАТОРЫ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛАЛ.А. Кост

Научный руководитель: профессор, чл.-корр., д.б.н. К.А. Лукьянов

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,

Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, 117997

E-mail: lu.kurkova@gmail.com

FLUORESCENT INDICATORS OF MEMBRANE POTENTIALL.A. Kost

Scientific Supervisor: Professor, D.Sc (biological sciences), Corr. member of the RAS K.A. Lukyanov

Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry Russian Academy of Sciences, Russia, Moscow, st.

Miklukho-Maclay, 16/10, 117997

E-mail: lu.kurkova@gmail.com

Abstract. Genetically encoded voltage indicators (GEVI) represent a promising tool for neurophysiological experiments. However, the practical characteristics of GEVIs remain suboptimal for in vivo studies and require further investigation. In this project we've designed GEVI variants based on the red fluorescent protein FusionRed and voltage sensitive domains (VSDs) of various nature.

We engineered an indicator with a new topological combination of sensitive and reporter domains, called "insertion into cpFP". The resulting indicator VSD189-188 demonstrated the first successful implementation of this new topology, but has a rather slow kinetics of fluorescent response ($\tau_{on} = 25$ ms). We optimized it by shortening the interdomain amino acid linker, and obtained sensor response speed more than 25 times. We also proposed to improve the contrast by switching to a new voltage sensitive core.

The repertoire of currently existing VSDs is limited. Thus, the search for alternative molecules suitable for the role of the GEVI sensitive core is urgent. The main functional criterion here is conformational mobility in response to a change in membrane potential. Prestin is a voltage sensitive transmembrane protein of the mammalian auditory analyzer. It is characterized by electromotility - the ability to change conformation in response to changes in the membrane potential. We created GEVI constructs based on *Meriones unguiculatus* prestin, which showed reliable signals in the HEK293 cell line, as well as correct membrane localization in the culture of mouse embryonic neurons. Thus, for the first time, we used the electromotile mammalian protein, prestin, as a VSD for GEVI. The kinetic characteristics of the new indicator ($\tau_{on} = 0.57$ ms) put it on a par with the "fastest" GEVI based on prokaryotic opsins.

Введение. Генетически кодируемые индикаторы мембранного потенциала (ГКИМП) представляют собой многообещающий инструмент для нейрофизиологических экспериментов. Это гетерогенная группа химерных молекул, позволяющих неинвазивно и с высоким пространственно-временным разрешением регистрировать изменения различных клеточных параметров. Визуализация электрической активности

клеток и тканей является ключевой задачей для поиска ответов на вопросы о физиологических и патологических состояниях нервной системы. Однако практические характеристики ГКИМП на данный момент остаются неоптимальными для исследований *in vivo* и требуют дальнейшей доработки. Обычно молекула ГКИМП состоит из 2 основных структурно-функциональных единиц: потенциал-чувствительного домена (ПЧД) и репортерного домена. Характеристики каждого домена в отдельности и способ их соединения в молекуле химерного белка определяют рабочие параметры ГКИМП.

Целью данной работы является разработка и оптимизация ГКИМП на основе красного флуоресцентного белка (ФБ) FusionRed [1] и ПЧД различной природы.

Материалы и методы. Для достижения данной цели необходимо решить ряд задач, первой из которых являлся выбор дизайна топологии химерной молекулы. Для выбранной топологии необходимо создать кодирующие последовательности ГКИМП. Данный этап осуществлен как с применением классических генноинженерных методик (амплификация специфическими праймерами, рестрикция, лигирование), так и с использованием модульного клонирования «Golden Gate» [2] (оптимизированный подход, сводящийся к процессу рестрикции-лигирования в одной пробирке). Транзиентная трансфекция экспрессионных векторов в клетки линии НЕК293 с помощью липофекции FuGENE HD (Promega) и дальнейшая визуализация флуоресцентного сигнала производилась спустя 48 часов после трансфекции на инвертированном флуоресцентном микроскопе AF6000 (Leica, Германия) с объективом HCX PL APO lbd. BL 63 × 1.4NA. Этот этап представляет собой первичное тестирование, позволяющее отобрать варианты с нормальным уровнем флуоресценции и мембранной локализацией индикатора. Следующим и ключевым этапом в процессе разработки ГКИМП является функциональное тестирование методом patch clamp с одновременной регистрацией флуоресцентного сигнала, электрофизиологическая установка и процедура описаны подробно ранее [3].

Результаты. Для визуализации процессов в целом организме наиболее подходящим по спектральным характеристикам являются красные и дальнекрасные варианты индикаторов, чей флуоресцентный спектр обеспечивает наилучшее проникновение сигнала сквозь толщу животной ткани. По этой причине для создания ГКИМП в роли репортера был выбран красный флуоресцентный белок FusionRed ($\lambda_{ex} = 580$ нм, $\lambda_{em} = 608$ нм). На основе красного ФБ FusionRed мы разработали 23 пермутированный и 2 бимолекулярных производных, позволяющих сделать молекулу белка более чувствительной к конформационным изменениям [4]. Бимолекулярные варианты FusionRed FR189-188zip и FR76-73zip были использованы нами при конструировании индикатора с новой топологической комбинацией чувствительного и репортерного доменов, называемой «insertion into cpFP» (части репортерного домена фланкируют чувствительный домен). Этот топологический дизайн был впервые применен в ГКИМП и показал свою работоспособность [3]. Полученный индикатор VSD189-188 обладает довольно медленной кинетикой флуоресцентного ответа ($\tau_{on} = 25$ мс). В целях оптимизации было создано 9 конструкций ГКИМП с различной длиной междоменных аминокислотных линкеров (от 0 до 21 аминокислотного остатка). В результате укорочения линкера до 2 аминокислот мы получили увеличение скорости ответа индикатора более чем в 25 раз [5]. Также было предложено увеличить контраст флуоресцентного ответа индикатора путем перехода на новое потенциал-чувствительное ядро. Репертуар используемых в настоящее время ПЧД довольно ограничен.

Таким образом, актуален поиск альтернативных молекул, подходящих на роль чувствительного ядра ГКИМП. Основной функциональный критерий здесь - конформационная подвижность в ответ на изменение мембранного потенциала. Престин - потенциал-чувствительный трансмембранный белок слухового анализатора млекопитающих [6]. Для него характерна электроподвижность, то есть способность значительно изменять свою конформацию в ответ на изменения мембранного потенциала. Чувствительность к изменению мембранного потенциала вместе с высокой скоростью колебаний в мембране (как минимум 2-3 кГц) делают молекулу престины перспективным кандидатом на роль чувствительного ядра ГКИМП.

Заключение. Успешно реализовав топологию "insertion into cpFP" с коротким гибким линкером в индикаторах с группы VSD189-188, мы применили её в сочетании с новым чувствительным ядром - престином. Полученный индикатор (Pres5) на основе престины монгольской песчанки *Meriones unguiculatus* и красного ФБ FusionRed продемонстрировал строго мембранную локализацию и субмиллисекундную кинетику флуоресцентного ответа на сдвиг мембранного потенциала при экспрессии в линии клеток НЕК293. Также Pres5 показал корректную мембранную локализацию в культуре эмбриональных нейронов мыши. Таким образом, нами впервые в качестве ПЧД ГКИМП был использован электроподвижный белок млекопитающих престины. Кинетические характеристики нового индикатора ($\tau_{on} = 0,57$ мс, $\tau_{off} = 1,50$ мс) ставят его в один ряд с наиболее «быстрыми» ГКИМП на основе прокариотических опсинов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90140. The reported study was funded by RFBR, project number 19-34-90140.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shemiakina I. I., et al. A monomeric red fluorescent protein with low cytotoxicity // Nature Communications. – 2012 – V.3., № 1. – P. 1204.
2. Weber E. et al. A Modular Cloning System for Standardized Assembly of Multigene Constructs // PLoS One. – 2011. – V.6, № 2. – P. 16765–16765.
3. Kost L. A., et al. Insertion of the voltage-sensitive domain into circularly permuted red fluorescent protein as a design for genetically encoded voltage sensor // PLoS ONE. – 2017 – V.12., № 9. – P. e0184225.
4. Кост Л.А. Бимолекулярная флуоресцентная комплементация на основе красного флуоресцентного белка FusionRed // Биоорг. химия. – 2016. – Т. 42., № 6. – С. 683-688.
5. Kost L. A., et al. Red Fluorescent Genetically Encoded Voltage Indicators with Millisecond Responsiveness // Sensors. – 2019 – V.19., № 13. – P. 2982.
6. Zheng J., et al. Prestin is the motor protein of cochlear outer hair cells // Nature. – 2000. – V.405 – P. 149–155.

УДК 616.8-005

НЕИНВАЗИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ НА МОДЕЛИ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА У КРЫС

М.С. Кудабаяева, А.А. Кисель

Научный руководитель: профессор, д.б.н М.Ю. Ходанович

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: kmsra08@gmail.com

NONINVASIVE STUDY OF REGENERATIVE PROCESSES IN THE BRAIN ISCHEMIA MODEL IN RATS

M.S. Kudabaeva, A.A. Kisel

Scientific Supervisor: Prof., Dr. M.Yu. Khodanovich

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

E-mail: kmsra08@gmail.com

Abstract. *The regenerative process mechanisms of the nervous system after brain ischemia remain unclear and request new research approach for detailed and reliable observation. In the present study recent noninvasive technique, fast macromolecular proton fraction (MPF) mapping, was compared with immunohistochemistry to assess recovery of the brain regions that were damaged by ischemia in rat focal ischemia model (MCAO). The present study revealed regions with dramatic decrease of MPF intensity in the striatum of rats after MCAO from the first day after ischemia to the fifty-sixth day (the last timepoint). Immunohistochemical analysis of this regions have shown neuronal and myelin loss, but the number of neuronal and glial progenitors increased in comparison with control group. Comparison of MPF maps and micrographs have revealed exact correspondence between the border of glial scar, which limits the place of nerve cell death, and regions of active neuronal progenitors migration with the regions of hypointensity on the MPF maps. The results provide histological validation of MPF as a noninvasive technique for monitoring of regenerative processes in the regions of neuronal and myelin loss after ischemia.*

Введение. Ишемический инсульт является одной из лидирующих причин смертности и инвалидизации населения по всему миру. Ишемическое повреждение мозга приводит к гибели клеток нервной ткани. Восстановление утраченных нервных клеток является длительным и сложным процессом и остается до сих пор слабо изученным. Для детального и достоверного исследования регенерации нервной ткани необходимо создание новых неинвазивных методов мониторинга, позволяющих локализовать зоны протекания восстановительных процессов, оценить их скорость и временные рамки. В данном исследовании изучалась применимость нового метода магнитно-резонансной диагностики, метода быстрого картирования макромолекулярной протонной фракции (МПФ) [1], для выявления восстановления мозга после ишемического инсульта.

Материалы и методы. Исследование проводилось на крысах-самцах линии Вистар (n = 6) проводилось моделирование локальной ишемии головного мозга путем временной окклюзии срединной церебральной артерии силиконовым филаментом (Doccol, USA), модель МСАО [2]. Животные были

исследованы на МРТ-сканере с напряженностью поля 7 Тесла (ClinScan; Bruker BioSpin, Germany) в нескольких временных точках до (в день операции) и после (1, 3, 5, 7, 14, 21, 31, 42, 56 суток) инсульта с применением метода МПФ. Животные выводились из эксперимента путем транскраниальной перфузии и ткани мозга замораживались после криопротекции в парах азота для последующего иммуногистохимического анализа. Отличие показателей зоны ишемического поражения по сравнению с симметричными структурами здорового полушария были оценены с использованием взвешенного *t*-критерия Стьюдента для зависимых выборок.

Результаты. В ходе анализа МПФ-карт была выявлена зона гипоинтенсивности в стриатуме крыс, которая сохранялась на всех временных точках исследования после моделирования ишемии. Иммуногистохимическое окрашивание данной области на белок зрелых нейронов NeuN выявил колоссальное снижение нейронов ($p < 0,05$), достигающее сокращения нейрональной популяции на 94 % (рис. 1: А, Г), окрашивание на белок МВР показал значительное сокращение площади ($p < 0,05$) поперечного сечения волокон белого вещества до 80% (рис. 1: А, Д), окрашивание на белок GFAP показал значительное увеличение количества астроцитов ($p < 0,05$) и выявил границы глиального шрама, совпадающие с зоной гипоинтенсивности на МПФ. По окраске на белок DCX было выявлено повышение плотности ($p < 0,05$) мигрирующих нейробластов из субвентрикулярной зоны латеральных желудочков до 17% (рис. 1: А, Е). Превышение плотности нейробластов было выше контрольных значений во всех исследуемых зонах, но в зоне демиелинизации была наибольшей и превысила уровень контроля в 17 раз. Помимо увеличения плотности нейробластов происходило отклонение пути миграции от следования вдоль паравентрикулярной зоны латеральных желудочков, свойственное здоровым животным. При этом степень отклонения миграции была пропорциональна площади демиелинизации видимой на картах МПФ. К 56 суткам нейробласты уже достигали отдаленных участков от зоны SVZ на всей площади региона демиелинизации. В зоне демиелинизации происходит увеличение количества предшественников олигодендроцитов ($p < 0,05$) и изменение их морфологии (рис. 1: А, Ж). Происходит увеличение объема тела клетки, увеличение их отростков, как видно по расположению белка NG2 в цитоплазме клетки.

Заключение. Полученные данные показали, что в зоне гипоинтенсивности МПФ происходит значительное увеличение клеток со специфичными маркерами, связанными с процессами восстановления. Увеличение NG2-клеток в зоне демиелинизации и изменение их морфологии свидетельствует о подготовке зоны поражения к ремиелинизации [3], а взаимодействие астроцитов и нейробластов необходимо для миграции будущих нейронов и подготовки среды для их развития. Сопоставление гистологических данных и карт МПФ показало соответствие границ глиального шрама, который ограничивает место гибели нервных клеток (потеря NeuN+клеток и сокращение МВР+площади), и зоны миграции нейробластов с зонами гипоинтенсивности на картах МПФ, что свидетельствует о возможности применения метода МПФ для локализации зоны ишемического поражения и зоны активного восстановления. Таким образом, метод быстрого картирования макромолекулярной протонной фракции является методом магнитной резонансной томографии, обладающим большим потенциалом для прогнозирования восстановления мозга после инсульта.

Обработка тканей, анализ МРТ данных, подготовка публикации проводились при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-315-90119). МРТ сканирование животных проводилось за счет средств грантов РНФ (проекты № 18-15-00229, 19-75-20142).

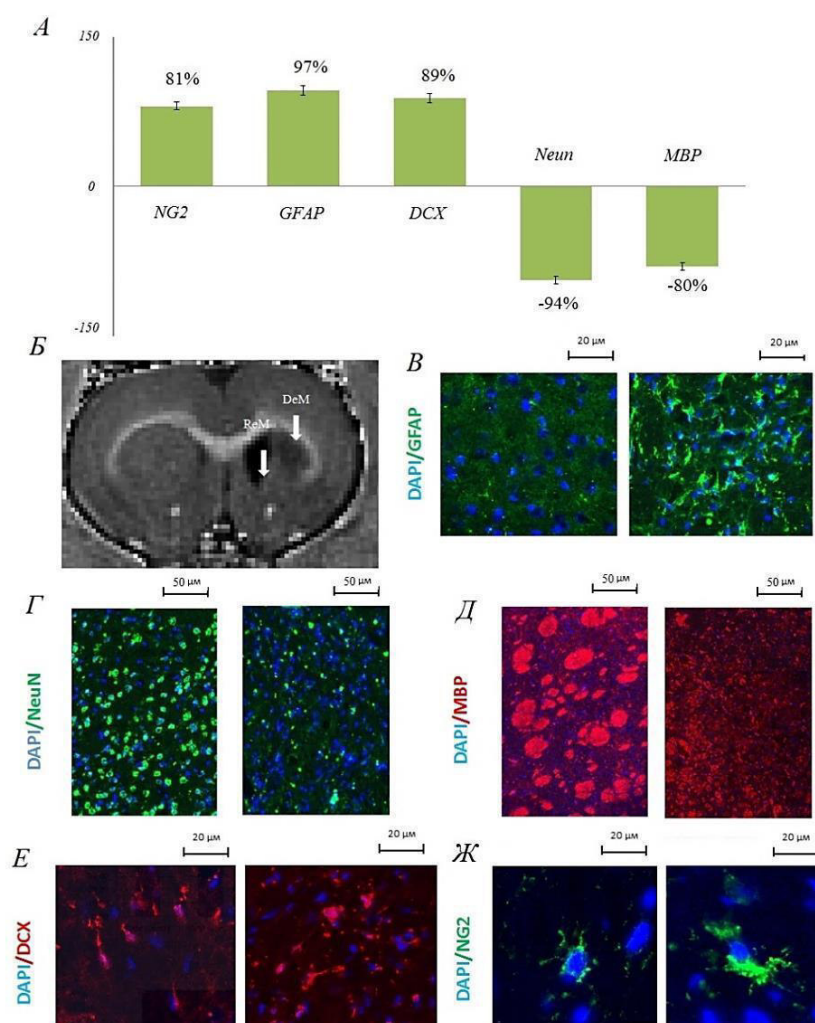


Рис. 1. Сравнение ишемизированного и контрольного полушарий мозга крыс в зоне демиелинизации. А - процентные изменения иммуногистохимических показателей относительно контрольного полушария. Б - расположение анализируемых зон на картах МПФ (ReM – зона ремиелинизации, DeM – зона демиелинизации на ипсилатеральном полушарии). В, Г, Д, Е, Ж – морфологические изменения, идентифицируемые при применении иммуногистохимических маркеров (контралатеральное полушарие всегда слева).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Naumova A. V. et al. High-resolution three dementional macromolecular proton fraction mapping for quantitative neuroanatomical imaging of the rodent brain in ultra-high magnetic fields // NeuroImage. - 2016. – V. 147. – P. 985–993.
2. Longa E. Z. et al.. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats // Stroke. -1989.- V. 20(1). – P. 84-91.
3. Khodanovich M Yu. et al. Quantitative assessment of demyelination in ischemic stroke in vivo using macromolecular proton fraction mapping // J Cereb Blood Flow Metab. – 2018. – V. 0(00). P. 1–13.

УДК 616-092.4

**РОЛЬ ЦАМФ И РКС В РЕАЛИЗАЦИИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ
МИОКАРДА В МОДЕЛИ СИНДРОМА ТАКОТСУБО У КРЫС**Б.К. Курбатов, А.П. Никифоров

Научный руководитель: д.м.н. Н.В. Нарыжная

Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, НИИ кардиологии,

Россия, г. Томск, ул. Киевская, д. 111А, 634012

E-mail: bobersanker@gmail.com

**ROLE OF cAMP AND PKC IN REALIZATION OF STRESS-INDUCED MYOCARDIAL DAMAGE
IN THE MODEL OF TAKOTSUBO SYNDROME IN RATS**B.K. Kurbatov, A.P. Nikiforov

Scientific Supervisor: Dr. N.V. Naryzhnaya

Tomsk National Research Medical Center of the RAS, Cardiology Research Institute, Russia, Tomsk,

Kyevsckaya st., 111A, 634012

E-mail: bobersanker@gmail.com

Abstract. Stress-induced heart injury (SIHI) was reproduced by immobilizing rats on the back for 24 hours. SIHI was assessed by the accumulation of ^{99m}Tc -pyrophosphate in the heart. In this study, it was shown role of the PKC has a cardioprotective effect. It was shown that the concentration of adrenaline and norepinephrine in the blood serum is observed at 2 hours of immobilization. It was also shown that the degree of MIBG accumulation does not change at 2 hours of immobilization but increases at 24 hours due to a decrease in the content of catecholamines in the depot. A significant increase in CK-MB activity was shown only with 24-hour immobilization. Thus, this study demonstrated that the implementation of SIHI is associated with an increase in sympathetic activity and is realized later than the maximum values of catecholamines. Also increase content in heart tissue of cAMP cGMP in stress associate with concentrate of catecholamine in blood serum

Введение. Участие стресса в повреждении сердца заподозрили еще в 40-х годах. Так, в 1946 г Moritz и Zamcheck сообщили о повышении частоты внезапной сердечной смерти у солдат во время второй мировой войны [1]. Кроме того Cannon W.B. описал случаи внезапной сердечной смерти у людей с «мистическим мышлением» при «проклятиях» [2]. Теория возникновения стресс-реакции получила развитие в работах Г. Селье [3]. Но лишь в 1974 г. G. Johansson и соавт.[4] Впервые подтвердили участие стресса в повреждении сердца в экспериментальной модели. Они обнаружили что фармакологическая иммобилизация свиней приводит к повреждению миокарда и явным изменениям на ЭКГ. Интерес к стресс-индуцированному повреждению миокарда возобновился после обнаружения схожего состояния у человека Н. Sato и соавт. Авторы назвали данное состояния кардиомиопатия такотсубо, ввиду того что в систоле форма левого желудочка свойственное данному синдрому схоже с японской ловушкой для осьминогов. Особенность данного синдрома заключается в томСтоит отметить, что смертность среди пациентов с синдромом такотсубо сопоставима с острым миокардом инфаркта [5]. Лечение затруднено не только сложной дифференциальной диагностикой, но и отсутствием однозначного понимания

патофизиологических процессов. На данный момент остается недостаточно ясным роль внутриклеточных механизмов таких как цАМФ и цГМФ и РКС.

Методы исследования. Стресс-индуцированное повреждение миокарда моделировали с помощью 24-часовой иммобилизацией самок крыс в положении на спине. Оценка степени повреждения происходила по степени аккумуляции ^{99m}Tc -пирофосфата (^{99m}Tc -ПФ). Для оценки содержания катехоламинов в сердце использовался радиофарм препарат ^{123}I -метайодбензилгуанидин (МИБГ). Катехоламины измерялись в сыворотке крови с помощью набора CatCombi (IBL, США). Активность КФК-МВ в сыворотке крови измеряли с помощью набора «СК-МВ» REF153 (ANALYTICON BIOTECHNOLOGIES AG, Германия). Блокатор РКС Н89 вводили 4-хкратно внутрибрюшинно в дозе 20 мкг/кг. Измерение содержания в ткани миокарда цАМФ и цГМФ с помощью ИФА наборов ELISA Kit for Cyclic Adenosine Monophosphate (Cloud-Clone Corp, США) и ELISA Kit for Cyclic Guanosine Monophosphate (Cloud-Clone Corp, США).

Результаты. Как показано на рисунке 1 концентрация адреналина и норадреналина в крови принимает максимальное значение при 2-часовой иммобилизации и в дальнейшем происходит снижение вплоть до начального уровня. Схожая картина наблюдается и в степени аккумуляции МИБГ в сердце крыс. Так при 2-часовой иммобилизации аккумуляция радиофармпрепарата остается на уровне интактных животных ($3,22 \pm 0,17$ vs $3,6 \pm 0,3$, $P > 0,05$), что указывает на высокое содержание норадреналина в сердце. При 24-часовой иммобилизации происходит увеличение аккумуляции ($3,22 \pm 0,17$ vs $5,05 \pm 0,27$ CPM/g %, $P < 0,05$), что указывает на снижение содержания норадреналина в сердце. Значимое повышение содержания КФК-МВ происходит только при 24-часовой иммобилизации ($119,9 \pm 16,4$ vs $184,3 \pm 25,5$ ед/л, $P < 0,05$), при 2-часовой иммобилизации нет значимых изменений ($119,9 \pm 16,4$ vs $130,3 \pm 21,3$ ед/л, $P < 0,05$) по сравнению с интактными животными. Наблюдается максимальное повышение цАМФ в миокарде при 2 часовой стрессе, затем постепенно снижается (табл.2). В свою очередь максимальная концентрация цГМФ происходит на 24ч стресса, что указывает на развитие компенсаторных процессов (табл. 2). Блокада РКС вызвала уменьшение степени аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ.

Таблица 1

Степень аккумуляции ^{99m}Tc -пирофосфата при иммобилизационном стрессе и введение фармпрепаратов

Группа/препарат	Удельное включение ^{99m}Tc , CPM/г (% от введенной дозы)
Интактные, n=12	$0,0503 \pm 0,0045$
Стресс 24 ч, n=12	$0,1253 \pm 0,0163\#$
Безводный контроль, n=12	$0,053 \pm 0,0046$
Стресс 24ч + Н89	$0,554 \pm 0,005^{*}\#$

Примечание: *- уровень значимости к стрессированным животным, #- уровень значимости к интактным животным

Таблица 2

Содержание цАМФ и цГМФ при иммобилизационном стрессе различной длительности (2,6,24 часа)
в миокарде самок крыс

Группа/параметр	цАМФ нмоль/г	цГМФ Пмоль/г
интактные	18,2 ± 1,1	9 ± 1,1
2часовой стресс	129 ± 11,2*	39 ± 2,6*#
6 часовой стресс	40,7 ± 1,9*#	25 ± 0,4*#
24 часовой стресс	20,6 ± 4*	89 ± 12*#

Примечание: *- уровень значимости к стрессированным животным, #- уровень значимости к интактным животным

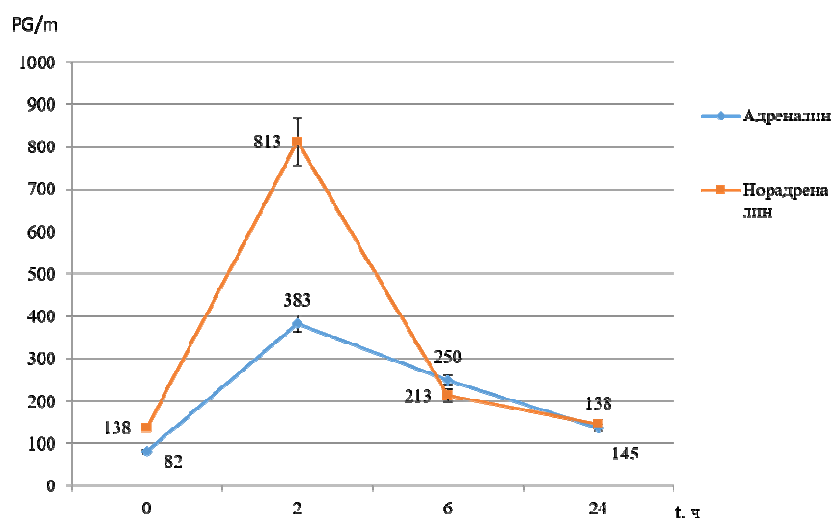


Рис. 1. Содержание адреналина и норадреналина в сыворотке крови у крыс при иммобилизации

Закключение. В ходе исследования было установлено, что цАМФ и цГМФ и РКС играют важную роль в развитии стресс-индуцированного повреждения сердца

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Moritz A.R. Zamcheck n. Sudden and unexpected deaths of young soldiers; diseases responsible for such deaths during World War II // Arch. Pathol. – 1946. – Vol. 42., № 5. – P. 459–494.
2. Cannon W.B. 'Voodoo' Death // Am. Anthropol. – 1942. – Vol. 44., № 2. – P. 169–181.
3. Очерки об адаптационном синдроме / под ред. МГ Дурмишьяна. – М. Медгиз, 1960. – С. 254.
4. Johansson G, Jonsson L, Lannek N, Blomgren L, et al. Severe stress-cardiopathy in pigs. // Am. Heart J. – 1974. – Vol. 87., № 4. – P. 451–457.
5. Stiermaier T, Möller C, Graf T, Eitel C, et al. Prognostic Usefulness of the Ballooning Pattern in Patients With Takotsubo Cardiomyopathy // Am. J. Cardiol – 2016. – Vol. 118., № 11. – P. 1737–1741.

УДК 615.468.21

ПОЛИМЕРНЫЕ СЕГНЕТОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ЭФФЕКТОМ ДЛЯ ЗАЖИВЛЕНИЯ РАН

И.В. Лукиев¹, Д.А. Гончарова²

Научный руководитель: н.с., к.т.н. Е.Н. Больбасов

¹Национальный исследовательский Томский политехнический университет,
Россия, г. Томск, проспект Ленина, 30, 634050

²Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Россия, г. Томск, проспект Ленина, 36, 634050

E-mail: ivan.lukiev@mail.ru

POLYMER FERROELECTRIC MEMBRANES WITH ANTIBACTERIAL EFFECT FOR WOUND HEALING

I.V. Lukiev¹, D.A. Goncharova²

Scientific adviser: Researcher, Ph.D. E.N. Bolbasov

¹Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin Avenue, 30, 634050

²Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin Avenue, 36, 634050

E-mail: ivan.lukiev@mail.ru

Abstract. *In the present study we performed the results of studies of the formation by electrospinning of composite fluoropolymer ferroelectric membranes based on a copolymer of vinylidene fluoride with tetrafluoroethylene (VDF-TFE), polyvinylpyrrolidone (PVP) and zinc oxide (ZnO) as an antibacterial agent. The effect of the PVP content on the conductivity and viscosity of spinning solutions, the structure and chemical composition of the formed membranes was studied. The antibacterial activity of the membranes in relation to Staphylococcus aureus was established.*

Введение. Современные перевязочные материалы, используемые для заживления гнойных ран, должны не только эффективно бороться с инфекцией, но и стимулировать процессы регенерации тканей. Благодаря взаимосвязанной открытой пористости, высокой площади свободной поверхности и сегнетоэлектрическим свойствам, полимерные мембраны, сформированные методом электроспиннинга на основе сополимера VDF-TFE, способны эффективно стимулировать процессы регенерации тканей. Недостатком таких материалов является низкая антибактериальная активность. В настоящей работе мы представляем результаты пилотных исследований, направленных на разработку композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран, обладающих антибактериальными свойствами на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом (VDF-TFE), поливинилпирролидона (PVP) и наночастиц оксида цинка (ZnO) [1].

Экспериментальная часть. Для изготовления мембран использовалась установка электроспиннинга NANON (МЕСС, Япония). Прядильные растворы представляли собой смесь VDF-TFE и PVP, растворенных в смеси ацетона (C₃H₆O) и изопропилового спирта (C₃H₈O). Общее содержание полимеров в растворе составило 6 масс %, при содержании наночастиц ZnO 15% от содержания полимеров. Для проведения исследований были изготовлены два типа растворов с содержанием PVP в смеси VDF-TFE/PVP

равным 0 и 40 масс %. Вязкость прядильных растворов определялась с помощью вискозиметра SV-10 (AND, Япония). Проводимость прядильных растворов исследовали с помощью кондуктометра Cond 7310 (WTW, Германия). Изучение структуры и химического состава сформированных мембран проводили с использованием сканирующего электронного микроскопа VEGA 3 (TESCAN, Чехия), оснащенного EDX детектором Xplore 30 (Oxford Instruments, Великобритания). Диаметр волокон в мембранах определяли с использованием программного обеспечения Image J 1.38 (National Institutes of Health, США). Антибактериальную активность исследовали в соответствии с рекомендациями ISO 20743: 2013 «Textiles — Determination of antibacterial activity of textile products» по методике, описанной в работе [2]. В качестве патогенной культуры был выбран штамм *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Результаты. Проведенные исследования показывают, что увеличение содержания PVP в прядильных растворах приводит к уменьшению вязкости и проводимости раствора (Таблица 1), что обусловлено ростом количества компонента с меньшей молекулярной массой.

Таблица 1

Показатели вязкости, проводимости прядильных растворов и среднего диаметра волокон в сформированных мембранах

Содержание PVP, %	Вязкость, мкПа	Проводимость, мкСм/см	Средний диаметр, мкм
0	51.86±4.31	43.54±1.00	0.35±0.01
40	6.278±0.41	34.46±0.50	0.31±0.004

Исследования, проведенные методом сканирующей электронной микроскопии, позволили установить, что, вне зависимости от содержания PVP, в прядильных растворах все полученные мембраны сформированы переплетающимися между собой волокнами с нормальным распределением размеров по диаметру, имеют хорошо развитую взаимосвязанную пористость (Рисунок 1).

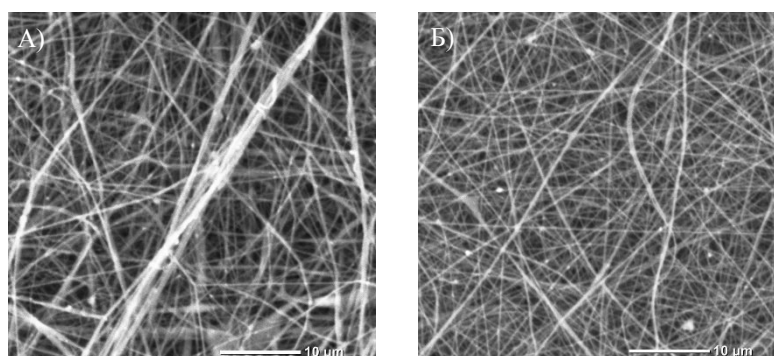


Рис.1. Структура сформированных мембран А) PVP 0% Б) PVP 40%

Отсутствие на поверхности мембран дефектов в виде потеков, сплавления и (т.д.) свидетельствует об оптимально подобранных технологических параметрах формирования мембран. С увеличением содержания PVP в прядильном растворе уменьшается средний диаметр волокон, формирующих мембрану, что обусловлено снижением вязкости и проводимости прядильных растворов. (Таблица 1). Состав мембран, не содержащих PVP, представлен углеродом и фтором - основными элементами, формирующими

полимерную цепь сополимера VDF-TFE. А также кислородом и цинком – основными элементами неорганического наполнителя. Увеличение содержания PVP приводит к обогащению химического состава сформированных мембран азотом и кислородом, что свидетельствует о формировании полимерного композита. Содержание цинка практически не изменяется (Таблица 2).

Таблица 2

Химический состав и антибактериальная активность исследуемых мембран

Содержание PVP, %	C	F	N	Zn	O	Антибактериальная активность, отн ед.
0	52.38±0.31	41.82±0.38	-	2.37±0.15	3.38±0.08	0,349
40	64.65±0.30	20.45±0.50	5.21±0.17	2.25±0.04	7.44±0.11	1,586

Исследования антибактериальной активности сформированных мембран показывают, что, при отсутствии изменений в содержании цинка, увеличение содержания PVP в сформированных мембранах увеличивает значение показателя антибактериальной активности ~ в 4 раза (Таблица 2). Таким образом, согласно ISO 20743: 2013, с увеличением содержания PVP наблюдается изменение антибактериальной активности сформированных мембран в отношении *Staphylococcus aureus* от слабой до значительной, что обусловлено увеличением способности мембран, содержащих PVP транспортировать, антибактериальный агент в зону контаминации.

Закключение. Методом электроспиннинга сформированы композиционные сегнетоэлектрические мембраны на основе сополимера VDF-TFE, PVP и наночастиц ZnO. Установлено, что увеличение содержания PVP уменьшает проводимость и вязкость прядильных растворов, обогащает химический состав сформированных мембран углеродом, азотом и кислородом, уменьшает средний диаметр волокон в мембране, не изменяя содержания Zn. Увеличение содержания PVP улучшает транспорт антибактериального агента в зону контаминации, увеличивая антибактериальную активность мембран.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта 20-03-00171.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gavrilenko E.A., Goncharova D.A., Lapin I.N., Nemoykina A.L., Svetlichnyi V.A., Aljulaih A.A., Mintcheva N., Kulinich S.A. Comparative Study of Physicochemical and Antibacterial Properties of ZnO Nanoparticles Prepared by Laser Ablation of Zn Target in Water and Air // Materials. – 2019. – Vol.12(1). – P.15.
2. A.D. Badaraev, A. Konjaeva, S.A. Krikova, E.V. Shesterikov, E.N. Bolbasov, A.L. Nemoykina, V.M. Bouznic, K.S. Stankevich, Y.M. Zhukov, I.P. Mishin, E.Y. Varakuta, S.I. Tverdokhlebov. Piezoelectric polymer membranes with thin antibacterial coating for the regeneration of oral mucosa // Applied Surface Science. – 2020. – Vol.504. – P.35.

УДК 578.834

ОСОБЕННОСТИ ПЭТ-КТ КАРТИНЫ COVID-19 У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХО.А. Новицкая, К.А. Богатенков, Л.Ю. Трофимчук

Научный руководитель: к.м.н. Н.Г.Афанасьева

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения "Челябинский областной клинический
центр онкологии и ядерной медицины"

Россия, г. Челябинск, ул. Блюхера 42, 454087

E-mail: novitskaya.olga@outlook.com**FEATURES OF THE PET-CT PICTURE OF COVID-19 IN CANCER PATIENTS**O.A. Novitskaya, K.A. Bogatenkov, L.Yu Trofimchuk.

Scientific Supervisor: Candidate of Medical Sciences N.G. Afanasyeva

State Budgetary Healthcare Institution "Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear
Medicine, Russia, Chelyabinsk, st. Blucher 42, 454087E-mail: novitskaya.olga@outlook.com

Abstract. The article examines the PET-CT picture of lung, liver, mediastinal lymph nodes, lung roots, and bone marrow COVID-19 lesions in cancer patients. The analysis of PET-CT (studies, anamnestic and laboratory) data of 56 patients with oncopathology was carried out on the basis of the PET center of the State Medical Institution "Choktsoyam" in Chelyabinsk. Typical CT patterns of COVID-19 were determined with mainly CT - 1 degree of lung parenchyma damage with a moderately elevated level of 18F-FDG hypermetabolism. More than half of the patients had an increased metabolism in the lymph nodes. Changes in the metabolism of 18F-FDG in the liver and bone marrow projection had insignificant deviations in different CT degrees of lung parenchyma damage.

Введение. С декабря 2019 г из г. Ухань провинции Китай COVID-19 распространился на все континенты и приобрел характер пандемии, согласно онлайн-панели от Джона Хопкинса [1], охватывая все слои и группы населения, в том числе людей с онкопатологией. COVID-19 поражает дыхательную систему, лимфоидные органы, печень, миокард, другие органы и системы. В исследовании произведена оценка особенностей ПЭТ-КТ картины COVID-19 у онкологических пациентов.

Материалы и методы исследования. Произведен анализ ПЭТ-КТ исследований, анамнестических и лабораторных данных пациентов с онкопатологией (рак молочной железы, рак предстательной железы, рак легкого, рак шейки матки, матки и яичников, рак почки, меланома) в период с октября 2020 г по январь 2021 г на базе ПЭТ-центра ГБУЗ «ЧОКЦОиЯМ» г. Челябинск. Критерии включения: выявленные участки уплотнения легочной ткани по типу «матового стекла», «матового стекла» на фоне ретикулярных изменений, «матового стекла» с симптомом консолидации и сочетание данных симптомов. Критерии исключения: выявленные только участки по типу консолидации. Контрольная группа состояла из 54 пациентов со схожими онкологическими нозологическими единицами, без признаков COVID-19. У этой группы в проекции печени и костного мозга был измерен SUVmax (стандартизированный показатель уровня накопления РФП) для определения средних значений показателя. В основной группе SUVmax был измерен в пораженных легких, лимфатических узлах

средостения и легочных корней, печени, костного мозга для выявления изменений показателя, вероятно, обусловленных поражением COVID-19. В исследование включено 56 пациентов. Женщины составили 51,8% (29 пациентов), мужчины 48,2% (27). Средний возраст составил 56,4 лет. Физиологический гиперметаболизм РФП отмечался в миокарде [2], затрудняющий оценку поражения сердечной мышцы.

Результаты. При анализе ПЭТ-КТ картины определялись, с разным уровнем метаболической активности, участки уплотнения легочной ткани по типу: «матового стекла» у 75% (42), $SUV_{cp,max}=2,2$; «матового стекла» на фоне ретикулярных изменений у 12,5% (7), $SUV_{cp,max}=3,1$; сочетание «матового стекла» с симптомом консолидации у 7,1 % (4), $SUV_{cp,max}=3,8$; а также совместное их проявление (рис 1.) 5,4% (3), $SUV_{cp,max}=3,6$ (таблица 1).

Таблица 1

ПЭТ- КТ паттерны поражения легких COVID-19

Уплотнение легочной ткани по типу	«матового стекла»	«матового стекла» на фоне ретикулярных изменений	«матового стекла» с консолидацией	«матового стекла» на фоне ретикулярных изменений с участками консолидации
$SUV_{cp,max}$	2,2	3,1	3,8	3,6

По ПЭТ-картине в паренхиме легких в 48,2% (27 пациентов) был выявлен слабо повышенный уровень гиперметаболизма РФП до $SUV_{cp,max} = 1,8$, умеренно - $SUV_{cp,max} = 3,2$ в 21,4 % (12), высоко - $SUV_{cp,max} = 5,6$ в 3,6 % (2).

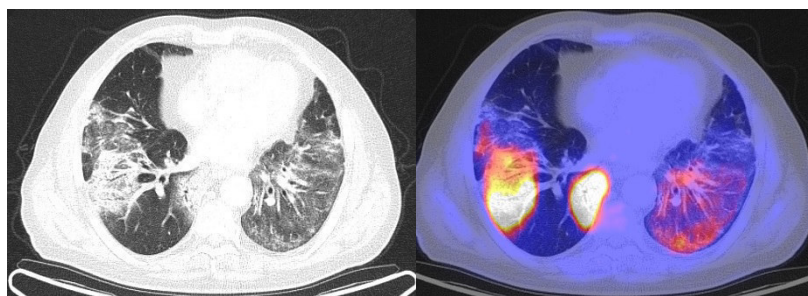


Рис. 1. ПЭТ-КТ паттерны поражения легких COVID-19

У оставшихся 26,8% (15) пациентов изменения легочной ткани не сопровождалось гиперметаболизмом 18F-FDG. КТ-паттерны участков «матового стекла» COVID-19 значимо не отличались от таковых основной популяции без онкопатологии [3]. Выявленная площадь поражения была в пределах от 5% до 70%, со средним значением - 18,2 %. КТ-1 степень поражения выявлялась у 80,4 % (45) пациентов, КТ-2 у 10,7 % (6), КТ-3 у 8,9% (5), КТ-4 – 0 пациентов. Отмечалось повышение распределения РФП $SUV_{cp,max}=3,8$ в лимфатических узлах у 55,4 % (31), на фоне присутствия и отсутствия ПЭТ-признаков метаболической активности в инфильтрации легочной паренхимы. При площади поражения: от 5% до 25% (КТ-1) в проекции большей части лимфоузлов до 86,6% (39) отмечался $SUV_{cp,max}=3,7$; от 25 до 50 % (КТ-2) у 6 пациентов - $SUV_{cp,max}=4,2$; от 50 до 75% (КТ-3) у 4 пациентов - $SUV_{cp,max}=3,8$. В момент предыдущего исследования лимфатические узлы были метаболически неактивными.

Таблица 2

Уровни метаболической активности лимфоузлов и паренхимы печени при COVID-19

Площадь поражения паренхимы легких	КТ-1 (от 5% до 25%)	КТ-2 (от 25% до 50%)	КТ-3 (от 50% до 75%)
SUV _{ср.мах} лимфоузлов средостения и легочных корней	3,7	4,2	3,8
SUV _{ср.мах} печени	3,4	2,9	4,2

У пациентов, прошедших ПЭТ-КТ для оценки динамики онкологического процесса, были измерены показатели SUV_{ср.мах} паренхимы печени при предыдущем исследовании (SUV_{ср.мах} =2,5) и в момент обнаружения КТ-паттернов в легких: при КТ-1 SUV_{ср.мах} составил 3,4; при КТ-2 -SUV_{ср.мах} = 2,9; при КТ-3 - SUV_{ср.мах} =4,2. В проекции костного мозга практически всех костей скелета, вошедших в зону интереса, определялся диффузно повышенный гиперметаболизм 18F-FDG у 13 пациентов со средним значением SUV_{мах}=4,2. Из них после и в процессе ХТ находилось 10 пациентов, у остальных 3 пациентов с исключением других причин, вероятно, можно подозревать поражение связанное с COVID-19.

Заключение. Выявленные КТ-паттерны соответствовали перенесенной COVID-19, а также субклиническим её формам. Наиболее часто встречающаяся степень поражения легких – КТ 1. Метаболические изменения в легочной паренхиме чаще носили ПЭТ-признаки слабого и умеренного гиперметаболизма РФП. Наиболее высокий показатель гиперметаболизма 18F-FDG определялся при инфильтративных изменениях по типу «матового стекла» в сочетании с консолидацией. Более чем у половины пациентов отмечались метаболические изменения лимфоузлов при метаболически активном и неактивном легочном проявлении COVID-19, а также у перенесших вирусную пневмонию без структурных изменений в паренхиме легких в момент исследования. Изменения метаболизма 18F-FDG в проекции печени и костного мозга имели незначимые отклонения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Джон Хопкинс. Онлайн-панель COVID-19 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6> (дата обращения 27.02.2021)
2. Христенко Е.А., фон Стакельберг О., Кауцор Х.У., Лайер Г.З., Ридэн Т.В. КТ-паттерны при COVID-19 ассоциированных пневмониях – стандартизация описаний исследований на основе глоссария общества Флейшнера//Russian electronic journal of radiology. – 2019. – 9 (4). – С. 82-96.
3. Национальное руководство по радионуклидной диагностике/ Под ред. Ю.Б. Лишманова, В.И. Чернова. – В 2-х т. – Томск: STT, 2010. – Т. 2. – 418 с.

УДК 57.084.1

**ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИГУАНИДИНОВ ДЛЯ
ТЕРАПИИ ЭКТОПАРАЗИТАРНЫХ ИНВАЗИЙ У РЫБ**

О.С. Очиров¹, М.Н. Григорьева¹, В.О. Окладникова²

¹Байкальский институт природопользования СО РАН

Россия, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, д.6, 670047

²Бурятский государственный университет им. Доржи Банзарова

Россия, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, д. 24а, 670000

E-mail: ochirov.o.s@yandex.ru

**POSSIBILITY OF APPLICATION OF WATER-SOLUBLE POLIGUANIDINES FOR THERAPY
OF ECTOPARASITIC INVASION IN FISH**

O.S. Ochirov¹, M.N. Grigor'eva¹, V.O. Okladnikova³

¹Baikal Institute of Nature Management SB RAS, Russia, Ulan-Ude, Sakhyanovoi str., 6, 670047

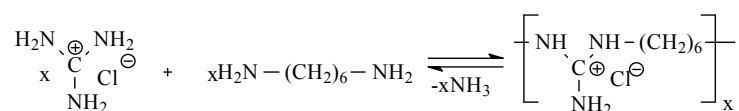
²Buryat State University named after Dorji Banzarova, Russia, Ulan-Ude, Smolina str., 24a, 670000

E-mail: ochirov.o.s@yandex.ru

Abstract. *This work is aimed at investigating the effect of new water-soluble derivatives of polyhexamethylene guanidine hydrochloride on aquatic organisms in order to assess the possibility of using them as highly effective drugs to combat ectoparasites of fish.*

Введение. Одной из наиболее актуальных проблем аквакультур является борьба с заболеваниями рыб, в том числе с заболеваниями, вызванными эктопаразитами рыб и приводящие к их массовой гибели, особенно транспортировки и смене условий содержания. Основные методы борьбы с такими болезнями сводятся к использованию препаратов, действующими веществами которых являются высокотоксичные соединения, эффективность которых, в большинстве случаев, граничит с огромным вредом, наносимым как окружающей среде, так и самим рыбам [1]. Поэтому перспективной является разработка новых методов для борьбы с заболеваниями рыб с использованием препаратов, оказывающих минимальное негативное воздействие на объект лечения и условия его существования. С этих позиций, интерес представляет использование водорастворимых полигуанидинов, обладающих высоким биоцидным эффектом, низкой токсичностью и применяемых как дезинфектанты широкого спектра [2].

Экспериментальная часть. Синтез полигексаметиленгуанидин гидрохлорида: Полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГх) был получен путем поликонденсации в расплаве Гексаметилендиамин (ГМДА) и Гуанидин гидрохлорид (ГГХ) при температуре 165° С в течение 6 ч. Сополимер ГМДА/ Октаметилендиамин (ОМДА) /ГГХ был получен в подобных условиях, как и ПГМГх, исходное мольное соотношение мономеров составило 0.5 моль (ГМДА)/0.5 моль (ОМДА)/1 моль (ГГХ) [2]. N-октилзамещенный ПГМГх получали in situ путем добавления определенного количества алкилирующего агента (н-октиламин) к эквимольному количеству ГМДА и ГГХ в аналогичных условиях [3].

Схема синтеза ПГМГ₂x.

Микробиологические методы исследования: Полимерные образцы в эксперименте по определению острой токсичности были исследованы в 5-ти повторах с 1м видом инфузорий (свободноживущие инфузории *Tetrahymena thermophila* Nanney & McCoy, 1976) и 5ю видами жгутиконосцев. Культивирование жгутиконосцев проведено по методикам, представленным в работе [4]. Аксеничную культуру инфузорий культивировали на питательной среде, состоящую из пептона (1%), дрожжевого экстракта (1%), D-глюкозы (0,2%). Перед работой все образцы полимера дополнительно обезвоживали высушиванием в сушильном шкафу при температуре 60 °С в течение 12 часов. Водные стоковые растворы полимеров в концентрации 100 мг/л готовили в стеклянных бутылках с притертой пробкой. Рабочие растворы полимеров меньших концентраций готовили в стеклянных бюксах. В середину каждой лунки культуральных планшетов помещали 40 мкл культуры того или иного вида протиста с численностью ~ 4000 кл./мл. Контролировали жизнеспособность клеток под микроскопом. Для наблюдений использовали инвертированный микроскоп Carz Zeiss Axio Observer 5 LED с фазово-контрастными объективами 10х, 20х. После чего к каждой суспензии клеток протиста в лунке приливали 400 мкл раствора полимера соответствующей концентрации. В эксперименте с гетеротрофными жгутиконосцами оценивали токсичность полимера концентрации 0,5 мг/л, 1 мг/л, 1,5 мг/л, 2 мг/л, 2,5 мг/л, 3 мг/л, 3,5 мг/л (итоговая концентрация полимера в лунке культурального планшета после внесения 40 мкл культуры протиста и 400 мкл водного р-ра полимера). В эксперименте с инфузориями оценивали токсичность полимера концентрации 0,5 мг/л, 1 мг/л, 1,5 мг/л, 2 мг/л, 2,5 мг/л, 3 мг/л, 5 мг/л, 10 мг/л, 15 мг/л, 20 мг/л, 25 мг/л, 50 мг/л, 100 мг/л.

Результаты. Ранее была проведена оценка токсичности полимеров и сополимеров гуанидинового ряда по отношению к рыбам в условиях острого и хронического эксперимента, результаты исследования показали, что токсичность увеличивается в ряду ОМДА:ГМДА:ГГХ < ПГМГ₂x < N-октилзамещенный ПГМГ₂x [5].

На втором этапе исследований необходимо было провести оценку токсического действия полигуанидинов непосредственно на возбудителей эктопаразитарных инвазий у пресноводных рыб. В качестве испытуемых были выбраны родственники протист (*Tetrahymena thermophila*, *Parabodo caudatus*, *Neobodo borokensis*, *Bodo saltans*, *Phyllomitus* sp., *Colponema* sp.), вызывающих наиболее распространенные заболевания у рыб.

Установлено, что минимальным токсическим действием по отношению к протистам обладает образец полимера ПГМГ₂x, гибель протистов при внесении меньших концентраций наблюдается для образцов N-октилзамещенного ПГМГ₂x и сополимера ГМДА:ОМДА:ГГХ. Очевидно, что наиболее предпочтительный продукт должен быть максимально токсичным по отношению к протистам и минимально - по отношению к рыбам, поэтому оптимальной структурой видится сополимер ГМДА:ОМДА:ГГХ, полная гибель всех клеток протиста при инкубации в течение 1 суток (табл. 1).

Таблица 1

Концентрация полимерных образцов, необходимая для полной гибели клеток протиста (инкубация 24 часа), мг/л

Протист Полимер	<i>Tetrahymena thermophila</i>	<i>Parabodo caudatus</i>	<i>Neobodo borokensis</i>	<i>Bodo saltans</i>	<i>Phyllomitus</i> sp.	<i>Colponema</i> sp.
ОМДА/ГМДА/ГГХ	20	1.5	1.5	1.5	1	3.5
N-Октилзамещенный ПГМГ _{ГХ}	10	0.5	1.5	1	2	2
ПГМГ _{ГХ} 1:1	20	1.5	3	3	1.5	3

Данные значения, в подавляющем количестве случаев, ниже пороговой концентрации летального эффекта рыб [5]. Есть основания прогнозировать, что более длительная экспозиция зараженных особей при более низких концентрациях будет сопровождаться положительным терапевтическим эффектом даже к протистам, проявляющих некоторую устойчивость к препарату.

Выводы. Проведены исследования токсического действия полимера по отношению к свободноживущим протистам - ближайшим родственникам основных эктопаразитарных болезней рыб. Установлено, что все полученные полимерные продукты обладают выраженным токсическим действием. При этом, учитывая ранее полученные данные о токсичности по отношению к рыбам, наиболее перспективным для терапии эктопаразитарных инвазий у рыб является сополимер, полученный на основе двух диаминов (октаметилendiамина и гексаметилендиамина) и гуанидин гидрохлорида в соотношении 0.5:0.5:1 (ГМДА:ОМДА:ГГХ).

Работа выполнена в рамках проекта РФФИ № 18-416-030013 p_a и государственного задания БИП СО РАН № 0273-2021-0007.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sudova E., Machova J., Svobodova Z., Vesely T. Negative effects of malachite green and possibilities of its replacement in the treatment of fish eggs and fish: a review // Veterinarni medicina. – 2007. – V.52., No. 12. – P. 527–539.
2. Grigor'eva M.N., Stel'makh S.A., Astakhova S.A. et al. Biocidal action of copolymers based on aliphatic diamines and guanidine hydrochloride // J. Appl. Polym. Sci. – 2014. - V. 131., Issue 11. – P. 40319.
3. Stelmakh S.A., Grigor'eva M.N., Garkusheva N.M. et al. Studies of new biocidal polyguanidines: antibacterial action and toxicity // Polymer bulletin. – 2020 Online first DOI: 10.1007/s00289-020-03197-1.
4. Tikhonenkov D.V., Janouškovec J., Mylnikov A.P. Description of Colponema vietnamica sp.n. and Acavomonas peruviana n. gen. n. sp., Two New Alveolate Phyla (Colponemidia nom. nov. and Acavomonidia nom. nov.) and Their Contributions to Reconstructing the Ancestral State of Alveolates and Eukaryotes // PLOS ONE. – 2014. – V. 9. – P. 4.
5. Stelmakh S.A., Grigor'eva M.N., Tikhonenkov D.V., Ochirov O.S., Mogonov D.M. // Assessment of acute and chronic toxicity of water-soluble polyguanidines in relation to hydrobionts. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. – 2019. – Vol. 320., I. 1. – P. 012047.

УДК 159.9.072.43

**НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭКСПРЕССИВНОЙ РЕЧИ У ДЕТЕЙ
С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА**А.В. Пустовая

Научный руководитель: профессор, д.мед.наук Е.В. Гуткевич

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: a.pustovaya@list.ru**NEUROPSYCHOLOGICAL INDICATORS OF EXPRESSIVE SPEECH IN CHILDREN
WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS**A.V. Pustovaya

Scientific Supervisor: Prof., Dr. of Sci. (Medicine) E.V. Gutkevich

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

E-mail: a.pustovaya@list.ru

Abstract. *The paper presents the results of a neuropsychological examination of the level of development of expressive speech in children with autism spectrum disorders in preschool and school-age children.*

Введение. В последние годы отмечается увеличение частоты встречаемости аутистических расстройств (РАС) в детской популяции. Региональные оценки распространенности РАС, по данным ВОЗ, имеются только по европейскому региону и региону стран Северной Америки. Эти показатели мало различаются: для стран Европы медианный показатель составляет 61,9 на 10 000 (диапазон 30,0-116,1:10 000), для стран Северной Америке – 65,5 на 10 000 (диапазон 34-90 на 10 000; отношение частоты РАС у мальчиков и девочек находится в пределах от 2,6:1 до 4:1) [1]. По данными пилотного эпидемиологического скрининга риска возникновения РАС и других нарушений психического развития, проводимого Минздравом России в период с 2014 по 2019 гг. в крупнейших регионах страны встречаемость РАС у детей в возрасте до 2 лет составила 5:10 000 [2], в возрасте до 4 лет 18:10 000 [3].

У детей с РАС, которые представляют собой гетерогенную группу нарушений нейроразвития и включают различные нозологические дефиниции (синдром Аспергера, синдром Каннера, детский аутизм, атипичный аутизм, детское дезинтегративное расстройство), наблюдается триада нарушений социального взаимодействия, общения и стереотипного поведения [4].

Речевые нарушения при аутизме носят стойкий характер и нередко являются первым проявлением заболевания [5]. Большинство детей с РАС к двум годам не реагируют на обращение по имени, не фиксируют взгляда на говорящем, не следуют предупреждению. Отсутствие реакции ребенка в первые годы жизни на звуковые сигналы может приводить к постановке ошибочных диагнозов глухота или тугоухость. Родители обращают внимание на отсутствие реакция ребенка на голос, но при этом он может проявлять яркую эмоциональную реакцию на невербальные звуковые раздражители [6].

Особенности речи при аутистических расстройствах представляют собой качественные нарушения коммуникации и, как следствие, социализации ребенка. Наличие эхолалий — одна из самых

распространенных особенностей речи при аутизме. Обычно эхолалии представляют из себя неконтролируемое автоматическое повторение слов, услышанных в чужой речи. При этом можно выделить непосредственные эхолалии и отсроченные эхолалии. Для детей с РАС характерна общая стереотипность, которая представлена в речи не только в виде эхолалий, но и в форме более сложных вербальных ритуалов. Вербальные ритуалы представляют собой фиксированные последовательности высказываний, которые ребенок строит так, будто чувствует принуждение завершить их в определенном порядке. При этом ребенок может не только сам совершать вербальные ритуалы, но и принуждать к этому других. Важную роль в коммуникации играет просодика, с ее помощью возможно уточнить смысл фразы, обозначить вопросительные, восклицательные или утвердительные высказывания, разделить смысловые части внутри высказывания, передать эмоциональный контекст фразы [7].

Цель исследования – выявление уровня развития экспрессивной речи у детей с расстройствами аутистического спектра с использованием методов нейропсихологической диагностики.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 48 детей с диагнозами F84.0, F84.1, F84.5 по МКБ-10, средний возраст детей составил $5,75 \pm 2,61$ лет. Обследование детей проводилось на первичном приеме по данным наблюдения выполнения ребенком диагностических проб. Для определения уровня развития экспрессивной речи был использован блок «Экспрессивная речь» из методик «Нейропсихологическая диагностика детей дошкольного возраста» и «Нейропсихологическая диагностика детей школьного возраста» [8-10]. Блок «Экспрессивная речь» включает в себя оценку: оценку спонтанной речи в диалоге при описании картинок, просодики речи; пробы на название предметных изображений, автоматизированной (рядовой) речи.

Критерии балловых оценок: спонтанная речь: 0 баллов – плавная, развернутая, просодически неизменная речь без поиска слов и парафазий, 0,5 балла – речевая аспонтанность, трудности включения в речь, 1 балл – легкие изменения просодики с возможностью улучшения разборчивости речи при дополнительных усилиях или одна-две персеверации / аграмматизма с самокоррекцией, или единичный поиск слов, 2 балла – грубые нарушения просодики или множественные парафазии, персеверации, аграмматизмы с неполной коррекцией, 3 балла – речь совершенно неразборчива и непонятна; название предметных изображений: 0 баллов – безошибочное название всех предъявленных изображений предметов, 1 балл – поиск номинаций, увеличение латентного периода названия или единичные парафазии с самокоррекцией при актуализации низкочастотных слов, 2 балла – множественные парафазии и персеверации с частичной коррекцией с подсказкой первого слога в слове, 3 балла – некорректируемые парафазии и персеверации не менее чем в половине предъявленных для названия стимулов; автоматизированная речь: 0 баллов – возможность быстро и плавно посчитать от 1 до 10 в прямом и обратном порядке, 0,5 балла – правильный порядковый счет с запинками, остановками, 1 балл – одна ошибка с самокоррекцией, 1,5 балла – две ошибки с самокоррекцией, 2 балла – от 3 до 5 ошибок с частичной коррекцией, 3 балла – более 5 ошибок без коррекции.

Результаты исследования. Средние показатели уровня развития экспрессивной речи у обследованных детей: оценка спонтанной речи и просодики речи – 2,49 балла; оценка пробы на название предметных изображений – 2,52 балла; оценка автоматизированной (рядовой) речи – 2,55 балла. К основным дефектам, выявленным в результате проведения нейропсихологического обследования, можно отнести: отсутствие фразовой речи у некоторых детей, отсутствие использования

местоимения «Я» при рассказе ребенка о себе, сложности в выражении своих желаний и чувств, трудности (в некоторых случаях невозможность) ведения диалога, неразвернутость и бедность речи, выраженную смазанность речи, трудности включения в речь, фонетические замены, сниженный уровень активного и пассивного словарного запаса, узость объема речевого восприятия, единичные и множественные персеверации при назывании предметов и при соотнесении слова с картинкой, недостаточная сформированность рядовой речи.

Выводы. Нарушения речевого развития и коммуникативной направленности речи являются одним из основных симптомов проявлений расстройств аутистического спектра. По результатам проведенного нейропсихологического исследования были выявлены сложности в развитии всех компонентов экспрессивной речи, которые необходимо учитывать при составлении индивидуальных программ психо-коррекционного развития для детей с расстройствами аутистического спектра.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Всемирная организация здравоохранения. Шестдесят седьмая сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения. А67/17. Пункт 13.4 предварительной повестки дня 21 марта 2014 г. Комплексные и согласованные усилия по ведению расстройств аутистического спектра.
2. Иванов М.В., Симашкова Н.В., Козловская Г.В., Макушкин Е.В. Эпидемиология риска возникновения расстройств аутистического спектра у детей 16-24 месяцев жизни (данные по России за 2015-2016 гг.) // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2018. – Т.118 (5). – С. 12-19.
3. Simashkova N., Ivanov M., Kozlovskaya G. et al. Total screening of the risk of developing mental illness of young children in primary health care in Russia (data 2017) // European Psychiatry. – 2019. – Vol. 56 (51). – P. 54.
4. Черенева Е.А. Спиридонова М.С., Гуткевич Е.В. Дифференциальная диагностика аутизма и сходных состояний в детском возрасте // В сборнике: Психическое здоровье и образование. Сборник научных статей по материалам II Конгресса «Психическое здоровье человека XXI века». – 2018. – С. 370-374.
5. Бенилова С.Ю. Детский аутизм и системные нарушения речи: особенности и принципы дифференциальной диагностики // Специальное образование. – 2017. – № 3 (47). – С. 44-58.
6. Тагунова Н.Ю. Особенности речевого развития у детей с расстройствами аутистического спектра (РАС) // Научные исследования XXI века. – 2019. – № 2 (2). – С. 522-525.
7. Мамохина У.А. Особенности речи при расстройствах аутистического спектра // Аутизм и нарушения развития. – 2017. – Т. 15, № 3 (56). – С. 24-33.
8. Глозман Ж.М., Соболева А.Е., Титова Ю.О. Нейропсихологическая диагностика детей дошкольного возраста. – М.: Айрис-пресс, 2020. – в 3 ч.
9. Глозман Ж.М., Соболева А.Е. Нейропсихологическая диагностика детей школьного возраста. – М.: Артопринт, 2014. – 141 с.
10. Глозман Ж.М. Нейропсихологическое обследование: качественная и количественная оценка данных. – М.: Смысл, 2012. – 264 с.

УДК 577.29

**ВЛИЯНИЕ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ В КО-КУЛЬТУРЕ С МАКРОФАГАМИ**

М.А. Ракина¹, А.Д. Казакова¹, А.А. Евтина^{1,2}

Научный руководитель: к.м.н., И.В. Ларионова^{1,2}

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет

Россия, г.Томск, пр. Ленина, 36, 634050

²НИИ онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН,

Россия, г.Томск, пер. Кооперативный, 5, 634009

E-mail: militsarakina@mail.ru

**THE EFFECT OF CHEMOTHERAPUTIC AGENTS ON VIABILITY OF COLORECTAL CANCER
CELLS IN CO-CULTURE WITH MACROPHAGES**

M.A. Rakina¹, A.D. Kazakova¹, A.A. Evtina^{1,2}

Scientific Supervisor: Ph.D., I.V. Larionova^{1,2}

¹Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin Avenue, 36, 634050

²Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,

Russia, Tomsk, Kooperativny Street, 5, 634009

E-mail: militsarakina@mail.ru

Abstract. Colorectal cancer (CRC) is considered as one of the most common and fatal malignancies in the world. [1]. Tumor-associated macrophages (TAM) are key cells of innate immunity that constitute up to 50% of cells from tumor microenvironment and play a crucial role in tumor progression [2]. Chemotherapy (CT) is considered as one of the main types of anticancer treatment for solid tumors. However, in colon cancer its effectiveness is lacking due to a variety of reasons. One of them is TAMs and, in particular, their involvement in the effect of CT and the lack of tumor response to it [2]. Thus, we studied the effect of CT agents on viability of CRC cells in vitro and also established a co-culture of monocyte derived macrophages and tumor cells.

Введение. Колоректальный рак (КРР) является одним из наиболее распространенных и летальных злокачественных новообразований в мире. Согласно данным ВОЗ, в 2020 году было диагностировано более 1,9 миллиона новых случаев КРР, и было зарегистрировано около 500 тысяч смертей по всему миру [1]. Опухолеассоциированные макрофаги (ОАМ) являются ключевыми клетками врожденного иммунитета в опухолевом микроокружении; они регулируют рост первичных опухолей, противоопухолевый адаптивный иммунный ответ, ангиогенез опухоли, ремоделирование внеклеточного матрикса, интравазацию в сосудистую сеть и экстравазацию в метастатических участках [2].

Одним из основных видов противоопухолевого лечения солидных опухолей является химиотерапия (ХТ). Однако, ее эффективность, несмотря на развитие новых химиотерапевтических агентов при КРР, достигает не более 50%, и повышение эффективности противоопухолевой терапии на данный момент является важнейшей задачей клинической онкологии. Известно, что иммунная система, и, в частности, ОАМ, вовлекаются в эффект ХТ, и способствуют отсутствию ответа опухоли на ХТ

лечение [2]. Изучение программирующего действия ХТ агентов на макрофаги позволит выявить новые биомаркеры эффективности противоопухолевой терапии и обнаружить новые мишени для комбинированной иммуно- и химиотерапии.

В настоящем исследовании была смоделирована система ко-культуры клеточных линий колоректального рака и макрофагов, дифференцированных из моноцитов больных РТК. Был проанализирован эффект ХТ препаратов, применяемых в клинической практике при лечении больных РТК, на жизнеспособность опухолевых клеток.

Материалы и методы. В настоящем исследовании использовались линии опухолевых клеток колоректального рака – Сасо-2 (аденокарцинома ободочной кишки) и SW837 (аденокарцинома прямой кишки (4 стадия заболевания, метастатический рак), а также моноциты, выделенные из крови больных РТК методом магнитной сепарации.

Работа с клеточными культурами проводилась в соответствии со стандартными методиками. После оптимизации для ХТ эксперимента клетки были посажены в 12-луночный планшет при плотности клеток такой, чтобы на день добавления ХТ препаратов они находились в 70-80% конфлюэнтном состоянии. Опухолевые клетки культивировали в течение 2 дней в среде DMEM и Leibovitz's media (Gibco), соответственно. На 3 день добавляли химиотерапевтические препараты (оксалиплатин, 5-фторурацил и иринотекан) в выбранных концентрациях и далее культивировали 48 и 72 часа. По истечении времени в лунки добавляли реагент для анализа жизнеспособности клеток (Alamar blue, Thermo Fisher Scientific), культивировали 3 часа. Значение абсорбции измеряли при длине волны 570 и 600 нм с помощью спектрофотометра NanoDrop 8000, Thermo Fisher Scientific.

Моноциты выделяли из периферической крови больных РТК при помощи магнитной сортировки (MACS) с использованием CD14-позитивной селекции. К моноцитам в культуру добавляли 1 нг/мкл М-CSF.

Разделение макрофагов и опухолевых клеток из ко-культуры производили при помощи клеточного сортера. Проверку количества макрофагов и опухолевых клеток на промежуточных этапах осуществляли при помощи проточной цитометрии.

Результаты. Оптимальной для *in vitro* исследований считается доза препарата, при которой достигается гибель 50% опухолевых клеток (ЛД50). Результаты теста на жизнеспособность показали, что 48 часов недостаточно для достижения эффекта дозы ЛД50 иринотеканом в обеих культурах (Рисунок 1). Для клеток SW837 через 48 часов не было достигнуто ЛД50 ни одним из препаратов. Было принято решение использовать концентрации ХТ препаратов, для которых достигалась гибель 50% опухолевых клеток в течение 72 часов. Для клеток Сасо-2 были выбраны следующие концентрации ХТ препаратов на 72 часа: иринотекан 600 μM , оксалиплатин 200 μM , 5-фторурацил 500 μM . Для клеток SW837: иринотекан 750 μM , оксалиплатин 1000 μM , 5-фторурацил 750 μM .

Также была проведена оптимизация ко-культивирования макрофагов и опухолевых клеток Сасо-2 и SW837. Для этого были протестированы условия культивирования опухолевых клеток Сасо-2 и SW837 в бессывороточной среде для моноцитов/макрофагов (X-VIVO, Lonza). Результаты указали на то, что среда не является оптимальной для нормального роста опухолевых клеток. Далее, клетки Сасо-2 и SW837 и моноцитарные макрофаги были прокультивированы в среде для опухолевых клеток (DMEM и Leibovitz's media, Gibco), но с низким содержанием сыворотки (5%). Такая среда оказалась оптимальной для роста и дифференцировки всех видов клеток, в том числе моноцитарных макрофагов.

В результате оптимизации ко-культивирования были выбраны следующие параметры: моноцитарные макрофаги выделяли и помещали в 12-луночный планшет в количестве 1,2 млн. клеток, культивировали 3 дня в бессывороточной среде. Затем на 3 день добавляли опухолевые клетки в оптимальной плотности – Сасо-2 и меняли среду на DMEM с 5% содержанием сыворотки, и SW837 и меняли среду на Leibovitz's с 5% содержанием сыворотки. Далее ко-культура росла еще 3 дня для полной дифференцировки макрофагов из моноцитов и для оптимальной плотности опухолевых клеток.

При помощи клеточного сортера удалось успешно разделить макрофаги и опухолевые клетки из ко-культуры. Проверку количества макрофагов и опухолевых клеток на промежуточных этапах осуществляли при помощи проточной цитометрии. Для этого использовались антитела к лейкоцитарному антигену CD45, к макрофагам CD11b и к эпителиальным клеткам (опухолевым) CD326 (Ер-САМ). Был также отмечен эффект слияния клеток, экспрессировавших и лейкоцитарный (CD45+), и эпителиальный (Ер-САМ+) маркеры.

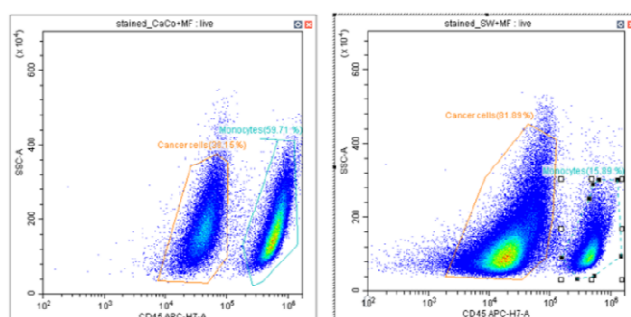


Рис. 1. Результаты анализа разделения моноцитарных макрофагов и опухолевых клеток Сасо-2 (слева) и SW837 (справа) из ко-культуры при помощи проточной цитометрии

Заключение. В результате исследования были оптимизированы концентрации ХТ препаратов, обеспечивающие достижение эффекта дозы ЛД50 в культурах клеток рака ободочной кишки Сасо-2 и прямой кишки SW837. Также была оптимизирована ко-культура опухолевых клеток и макрофагов, дифференцированных из моноцитов крови больных РТК.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-015-00384.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sung H. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries //CA: a cancer journal for clinicians. – 2021.
2. Larionova I. et al. Interaction of tumor-associated macrophages and cancer chemotherapy // Oncoimmunology. – 2019. – V.8 (7). – P. 1596004 (15).

УДК 602

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНОВ
ДВЫХАНИЯ ЧЕЛОВЕКА**Г.К. Распопин, Д.Р. Макашев

Научный руководитель: профессор, д.ф.-м.н. Ю.В. Кистенев

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: mitrandire@gmail.com**ASSESSMENT OF THE EFFECTIVENESS OF PERSONAL PROTECTION OF THE HUMAN
RESPIRATORY ORGANS**G.K. Raspopin, D.R. Makashev

Scientific Supervisor: Prof PhD Y.V. Kistenev

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

E-mail: mitrandire@gmail.com

Abstract. *In the present study, we are presenting an efficient and inexpensive mask efficiency testing method. In this method we are used developments of previous research on the topic. The basis of the method is the method of analyzing the changes in the dispersed medium (aerosol). For the experiment, a method was chosen based on measuring the spectral optical transparency of a dispersed medium - a modified spectral transparency method (MSTP) paired with multiwave technique. It is important to note that this work is only the first step and further results, concerning mask testing and various breathing patterns, will be the theme of the next paper.*

Введение. В связи с глобальным распространением вируса SARS-CoV-19 в начале 2020 года возникла необходимость использования средств индивидуальной защиты, в том числе масок и респираторов. В связи с этим, среди населения остро стоит вопрос о целесообразности и эффективности применения средств индивидуальной защиты. Справедливо заметить, что лицевая маска снижает вероятность заражения. Различные факторы, начиная от материала и заканчивая физическими нагрузками, значительно влияют на эффективность и время защиты маски. Множество научных работ [1-4] было посвящено исследованиям, учитывающим данные факторы, однако, большинство из них используют достаточно сложные, вследствие чего, дорогие измерительные установки. Целью данной работы является совершенствование существующих методов анализа дисперсных аэрозольных среды с учетом опыта предыдущих исследований [1-4].

Материалы и методы исследования. Исследования эффективности защитных функций масок и респираторов основаны на измерении характеристик светового излучения, прошедшего через дисперсные среды [5]. Для проведения эксперимента был выбран бесконтактный метод, основанный на измерении спектральной оптической прозрачности дисперсной среды – модифицированный метод спектральной прозрачности (ММСП). Модификация метода заключается в замене источников непрерывного света на набор источников монохроматического узко коллимированного излучения, что позволяет существенно расширить диапазон контроля концентрации частиц и увеличить длину

оптического пути из-за низкой расходимости лазерного излучения. Применение данного метода позволяет упростить конструкцию экспериментально – измерительного комплекса и избавиться от ошибок, связанных с отбором и представительностью проб [5]. Для определения дисперсности аэрозольных сред необходимо найти функцию распределения частиц по размерам. Решение задачи по ее восстановлению данной функции относится к классу обратных задач. В отличие от большинства работ по исследованию эффективности защиты масок и респираторов [1-4], ММСП позволяет получать результаты о реальных технологических процессах [6]. Восстановление функции распределения проводилось МСП [6], основным уравнением которого является интегральное уравнение Фредгольма первого рода:

$$I(\lambda) = I_0(\lambda) \exp \left[-\frac{\pi C_n l}{4} \int_0^\infty Q \left(\frac{\pi D}{\lambda}, m(\lambda) \right) D^2 f(D) dD \right]$$

где $I(\lambda)$, $I_0(\lambda)$ – интенсивность падающего и прошедшего через среду излучения; C_n – счетная концентрация частиц; $Q \left(\frac{\pi D}{\lambda}, m(\lambda) \right)$ – фактор эффективности ослабления зондирующего излучения; l – длина оптического пути; D – диаметр частиц; λ – длина волны зондирующего излучения; $f(D)$ – функция распределения частиц по размерам; m – комплексный показатель преломления конденсированной фазы аэрозоля; выражение, стоящее в квадратных скобках является коэффициентом спектральной прозрачности τ . Решение задачи на восстановление функции распределения заключается в том, что считается априорно известным вид функции распределения ($f(D)$ в выражении (1)) [7]. Фактор эффективности ослабления излучения (Q) рассчитывается в соответствии с теорией рассеяния Ми [7]. Выбор подходящего диапазона длин волн основан на принципе: чем более разнесены рабочие длины волн в спектральном диапазоне, тем в большей степени отличается вид зависимости $Q \left(\frac{\pi D}{\lambda}, m(\lambda) \right)$ на этих длинах волн, тем более широкий диапазон измерения D [5].

Для измерения использовалась экспериментальная установка, основные узлы которой приведены на рис. 1:

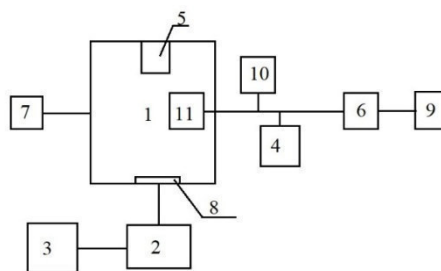


Рис. 1. Блок – схема измерительного комплекса. Под цифрами обозначены: 1 – измерительный объем с помещенным внутрь образцом маски; 2 – блок сбора и обработки данных; 3 – компьютер; 4 – генератор аэрозоля; 5 – модуль зондирующего лазерного излучения; 6,7 – вентиляторы для создания направленного потока; 8 – принимающий фотодетектор; 9 – НЕРА фильтр; 10 – датчик влажности, скорости потока; 11 – исследуемый образец

Результаты. Путем регулирования вентиляторов 6,7 с одновременной подстройкой генератора аэрозоля 4 данная экспериментальная установка позволяет имитировать особенности дыхания человека (обычный разговор, тренировка и т.д.), что позволит получать самые актуальные данные о применении

масок при различных условиях эксплуатации. Использование ММСП позволяет значительно увеличить область применения данного измерительного комплекса, упростить вычисления и увеличить точность аналитического решения при восстановлении функции распределения частиц по размерам.

Заключение. В результате работы было проведено усовершенствование существующих методов анализа [1-4] для оценки эффективности индивидуальных средств защиты органов дыхания в условиях сложившейся неблагоприятной эпидемиологической обстановки. Представлена методика, позволяющая моделировать реальные условия применения масок и респираторов. Предложенный метод является основой для дальнейшего развития методов эффективности средств индивидуальной защиты органов дыхания человека.

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках программы по содействию занятости выпускников 2020 года на научно-исследовательские позиции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fischer E.P. Low-cost measurement of face mask efficacy for filtering expelled droplets during speech // Science Advances. – 2020. – Vol. 6, № 36. – 6 p.
2. Foschini M. Aerosol blocking assessment by different types of fabrics for homemade respiratory masks: spectroscopy and imaging study // Open Science Journal. – 2020. – Vol. 6, №1. – 18 p.
3. Zhou S.S. Assessment of a respiratory face mask for capturing air pollutants and pathogens including human influenza and rhinoviruses // Journal of Thoracic Disease. – 2018. – Vol. 10, No. 3. – P. 2059-2069.
4. Lee B.U. Filtration efficiency of N95- and R95-Type respirators // Springer. – 2005. – Vol. 5, № 1. – 14 p.
5. Мещеряков Э.А. Оптический метод дистанционной экспресс – диагностики дисперсных характеристик двухфазных сред: Автореф. дис. ... канд техн. наук. – Томск, 2018. – 22 с.
6. Павленко А.А. Оптический спектрально-селективный метод восстановления функции распределения частиц по размерам // Ползуновский вестник. – 2011. – № 4. – С. 169 – 176
7. Дейрменджан Д. Рассеяние электромагнитного излучения сферическими полидисперсными частицами - М.: Мир, 1971. – 303 с.

УДК 616.613-003.7

**УРОЛИТ КАК НОСИТЕЛЬ ИНФОРМАЦИИ ОБ ОБРАЗЕ ЖИЗНИ ПАЦИЕНТА С
МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ – ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДАМИ: РФА, ИК-
СПЕКТРОСКОПИЯ И АЭС-ИСП.**

Е.А. Сабанцева^{1,2}, А.Д. Александрова²

Научные руководители: доцент, к.х.н. А.И. Губанов, доцент, к.м.н. Е.А. Яковец, к.х.н. А.Р. Цыганкова

¹Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН,

Россия, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева 3, 630090

²Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,

Россия, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2, 630090

Email: e.sabantseva@g.nsu.ru

**UROLITE AS A CARRIER OF INFORMATION ON THE LIFESTYLE OF A PATIENT WITH
UROLITHIASIS – ANALYSIS BY METHODS: RFA, IR SPECTROSCOPY AND ISP-OES**

E.A. Sabantseva^{1,2}, A.D. Aleksandrova²

Scientific Supervisors: Assoc. Prof., Dr. A.I. Gubanov, Assoc. Prof., Dr. E.A. Yakovets, A.R. Tsygankova

¹Nikolaev Institute of Inorganic Chemistry SB RAS, Acad. Lavrentiev Ave. 3, Novosibirsk, 630090, Russia

²Novosibirsk State University, Pirogov Ave. 2, Novosibirsk, 630090, Russia

Email: e.sabantseva@g.nsu.ru

Abstract. *This study shows the relationship of methods: PXRD, IR-spectroscopy, ICP-AES - in laboratory studies of uroliths. Single-phase uroliths from the collection of the Institute of Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (oxalates N = 100, uric acid N = 100, hydroxyapatite N = 20) were studied by the ICP AES method, and their average values were determined. The formula for the determination of reference values for trace elements of chemical elements in polyphase uroliths is proposed: $\bar{X} = \sum_{i=1}^N \bar{x}_i y_i$, where \bar{X} is the reference value of the trace element content in a urolite of a certain composition, \bar{x}_i is the average value of the trace element content determined by the ICP AES method for single-phase uroliths consisting only of a component i, y_i is the atomic fraction of phase i in the sample, calculated by PXRD. Deviation from the reference value allows you to determine the excess or lack of essential elements in the diet. The necessity of joint use of all the methods used for the maximum possible determination of the causes of urolitiasis is shown. The application of a comprehensive study is illustrated on 10 uroliths obtained from patients with urolitiasis with a known clinical history.*

Введение. Мочекаменная болезнь (МКБ) занимает одно из первых мест среди урологических заболеваний и ее распространенность прогрессивно увеличивается. Заболеваемость уrolитиазом в среднем составляет: около 6% населения в России, 5-9% в Европе, 14% в Северной Америке, в некоторых странах заболеваемость достигает 20%. Рецидивирование МКБ отмечается почти в 50% случаев в течение 5-10 лет после первого эпизода. В течение первых 2 лет после первого эпизода рецидив болезни происходит в 11% случаев.

Экспериментальная часть. Исследовались мочевые камни больных, проживающих на территории Новосибирского района. РФА почечных камней проводили на дифрактометре Shimadzu XRD. Количественный РФА проводили по методу корундовых чисел [1]. ИК-спектры измельченных порошкообразных образцов были зарегистрированы на ИК Фурье-спектрометре ФТ-801. Анализ элементного состава ПК проводили с использованием атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивно связанной плазмой iCAP-6500 Duo (Thermo Scientific).

Результаты. Методы ИК-спектроскопии и РФА дают схожие результаты количественного анализа (Табл. 1). ИК-спектрометрия очень чувствительный метод и может обнаруживать микропримеси фаз, которые не обнаруживает РФА. Однако не стоит забывать, что, из-за перекрывания пиков в ИК-спектрах, анализ является неточным, полуколичественным (ошибка до 35%), что зачастую приводит к отнесению микропримесей к макрокомпонентам.

Таблица 1

Данные о составе уrolитов, полученные методами ИК-спектроскопия и РФА, атом. %.

Номер образца	Оксалаты		Мочекислые		Фосфаты	
	ИК	РФА	ИК	РФА	ИК	РФА
1	75	91			20	9
2	100	100				
3	40	49	15	51	30	
4	25	24	65	76	5	
5	20	49	65	51		
6	65	94	10		25	4
7	100	100				
8	85	100	10		5	
9	10				90	100
10	100	100				

Проведен анализ методом АЭС-ИСП уrolитов из коллекции ИНХ СО РАН. Отобрали однофазные образцы: оксалаты (n=100) и мочекислые (n=100) [2]. Для нахождения референсных значений (\bar{X}) существует статистический метод, который позволяет определить среднее значение [3]. Расчет среднего содержания микроэлементного содержания элемента для выборки однофазных камней проводили по формуле:

$$\bar{x} = \frac{a+2m+b}{4},$$

где a – максимальное значение, m – медиана b – минимальное значение.

Для расчета референсных значений в случае смешанных камней нами предложена формула:

$$\bar{X} = \sum_{i=1}^N \bar{x}_i y_i,$$

где \bar{X} – референсное значение содержания микроэлемента в уrolите определенного состава, \bar{x}_i – среднее значение содержания микроэлемента, определенное методом АЭС-ИСП для однофазных уrolитов, состоящих только из компонента i ($N=100$), y_i – атомная доля фазы i в образце, рассчитанная методом РФА.

Предполагаем, если $x_i > \bar{X}$ (x_i – определенное методом АЭС-ИСП содержание микроэлемента в мочевом камне), то данный химический элемент, как компонент рациона питания, содержится в избытке в организме пациента, соответственно, при $x_i < \bar{X}$ – элемент содержится в недостатке. Данный подход проиллюстрирован для образцов 1-9 (Табл. 2) и для образца № 9 Рис. 1. На Рис.1 видно, что в достаточной мере в рационе питания пациента содержатся калий и натрий, содержание цинка снижено, а магний, железо и медь в значительном недостатке.

Таблица 2

Содержание эссенциальных микроэлементов в почечных камнях и рассчитанные референсные значения

		1	2	3	4	5	6	7	8	9
K	Реф	4,40E-02	4,80E-02	1,20E-01	1,60E-01	1,10E-01	4,50E-02	4,80E-02	4,80E-02	4,80E-02
	Изм	8,50E-02	2,50E-02	2,80E-02	4,10E-02	5,90E-02	2,30E-02	2,60E-02	2,60E-02	2,50E-02
Na	Реф	1,50E-01	1,60E-01	2,00E-01	2,10E-01	1,80E-01	1,50E-01	1,60E-01	1,60E-01	1,60E-01
	Изм	4,00E-01	1,20E-01	1,30E-01	2,50E-01	2,30E+00	6,50E-01	2,50E-01	2,00E-01	1,00E-01
Mg	Реф	6,70E-02	7,40E-02	4,00E-02	2,30E-02	4,00E-02	7,00E-02	7,40E-02	7,40E-02	7,40E-02
	Изм	1,50E-01	2,60E-02	2,00E-02	1,70E-02	1,30E-01	2,90E-03	3,70E-02	2,60E-02	2,20E-02
Zn	Реф	1,40E-02	1,50E-02	8,70E-03	5,60E-03	8,50E-03	1,40E-02	1,50E-02	1,50E-02	1,50E-02
	Изм	5,00E-02	1,20E-03	1,10E-03	1,10E-03	4,00E-02	4,00E-02	1,50E-02	1,60E-02	6,60E-03
Fe	Реф	1,20E-02	1,30E-02	7,50E-03	4,90E-03	7,40E-03	1,20E-02	1,30E-02	1,30E-02	1,30E-02
	Изм	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	5,10E-02	8,50E-03	2,90E-03
Cu	Реф	9,10E-04	1,00E-03	1,00E-03	1,00E-03	9,40E-04	9,40E-04	1,00E-03	1,00E-03	1,00E-03
	Изм	0,00E+00	1,60E-04	2,00E-04	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	1,10E-04

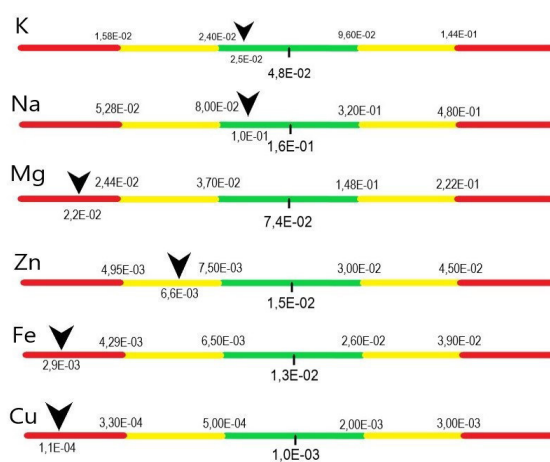


Рис.1. Содержание эссенциальных микроэлементов в мочевого камня пациента (образец №9)

Выводы. Уролит является уникальным объектом, в течение своего роста записывающим информацию о влиянии внешних и внутренних факторов (рацион питания, образ жизни, сопутствующие заболевания, внешние вредные факторы) на организм человека. Методы ИК-спектроскопии и РФА позволяют предположить патологические процессы в организме посредством определения макросостава мочевого камня. АЭС-ИСП позволяет предположить нарушения питания или влияние вредных факторов на пациента посредством определения в уролите избыточного содержания или недостатка необходимых или ядовитых для человека микроэлементов в сравнении с рассчитанным референсным значением. Интерпретация анализа микроэлементного состава уролита (АЭС ИСП) неэффективна без точных данных о фазовом составе (РФА).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Громилов С.А., Введение в рентгенографию поликристаллов. – Новосибирск: НГУ, 2008. – 50 с.
2. Tsygankova A., Lundovskaya O., Aleksandrova A., Korolkov I., Filatov E., Pechkovsky E., Yarin G., Safonov D., Vilgelmi I., Glushkova N., Gubanov A. Kidney stones analysis by ICP-OES // J. Phys.: Conf. Ser. – 2020. – №. 1611. – P. 012037.
3. Hozo S.P., Djulbegovic B. & Hozo I. Estimating the mean and variance from the median, range, and the size of a sample // BMC Med. Res. Methodol. – 2005. – P. 5-13.

УДК: 615.281.8; 612.359; 591.133

**ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ПЕЧЕНИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПРИ
ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ НОВОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО АГЕНТА КАМФЕЦИНА**О.П. Сальникова

Научный руководитель: к.б.н. А.В. Фатьянова, д.х.н. О.И. Яровая
Новосибирский национальный исследовательский государственный университет
Россия, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2, 630090
E-mail: OllSall-752@.yandex.ru

**LIVER FUNCTIONAL REACTIONS STUDY IN MAMMALS UNDER CHRONIC ADMINISTRATION
OF THE NEW ANTI-VIRAL AGENT CAMPHECENE**O.P.Salnikova

Scientific Supervisor: Cand. of Biol. A.V. Fatianova, D.Sc. (Chemistry) O.I. Yarovaya
Novosibirsk State University, Russia, Novosibirsk, Pirogova str, 2, 630090
E-mail: OllSall-752@.yandex.ru

Abstract. *The present study examined the effect of the new antiviral agent camphecene (1,7,7-trimethylbicyclo [2.2.1] heptan-2-ylidene-aminoethanol) on liver function in rats under long-term use compared with the antiviral agent rimantadine. Camphecene after 7 days of administration exhibits a more physiological effect on the liver parenchyma, but causes a hyperglycemic reaction. The introduction of camphecene for 14 days at a dosage of 100 mg / kg of body weight causes a pronounced functional response (bilirubin exchange, GGT and AST activity).*

Введение. Вирус гриппа А (IAV) – один из представителей семейства Orthomyxoviridae, наряду с вирусами гриппа В вызывающий сезонные эпидемии, внесезонные спорадические случаи и вспышки среди всех групп населения [1]. Для борьбы с возбудителями гриппа существует две одобренные FDA группы лекарственных средств: производные адамантана и ингибиторы нейраминидазы. Оба семейства препаратов тормозят развитие вирусной частицы на начальных и поздних стадиях цикла. Однако к противовирусным средствам развивается резистентность. В НИОХ СО РАН был синтезирован новый противовирусный агент: продукт взаимодействия камфоры и аминоэтанола – 1,7,7-триметилбисцикло(2.2.1)гептан-2-илиден-аминоэтанол – камфецин. Он показал высокую активность и селективность против штаммов вируса гриппа А (H1N1, H3N2, H5N2) и вируса гриппа В [2], превышая эти показатели в сравнении с римантадином [3]. Было показано, что камфецин метаболизируется в печени с образованием трех продуктов, а часть вещества выводится из организма с мочой без изменений [4].

Целью данной работы было изучение функциональных особенностей реакции печени крыс в условиях длительного введения противовирусного агента камфецина в сравнении с римантадином.

Экспериментальная часть. Работа выполнена на половозрелых самках крыс линии WAG при соблюдении принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным. Введение агентов осуществляли внутривентрикулярно 4 группам 1 раз в сутки (100 мг/кг): камфецин 7 суток, римантадин 7 суток, камфецин 14 суток, римантадин 14 суток. Контрольным группам вводили 1 мл 0,9%

NaCl. Был проведен анализ концентрации глюкозы, общего и конъюгированного билирубина, активности АЛТ, АСТ и ГГТ в плазме крови с использованием биохимических методик.

Результаты. В ходе анализа полученных результатов контрольные группы 7 и 14 суток не показали статистически достоверных различий, поэтому данные были объединены в общую группу контроля. При введении камфецина в течение одной недели наблюдается достоверное снижение активности АЛТ по сравнению с группой контроля (рис. 1А, $p<0,05$), в случае римантадина аналогичная ситуация наблюдается только на второй неделе введения. Активность АСТ оказалась более стабильной в условиях введения камфецина и римантадина. Достоверное увеличение выявлено только при введении камфецина в течение 14 суток (рис. 1Б, $p<0,01$).

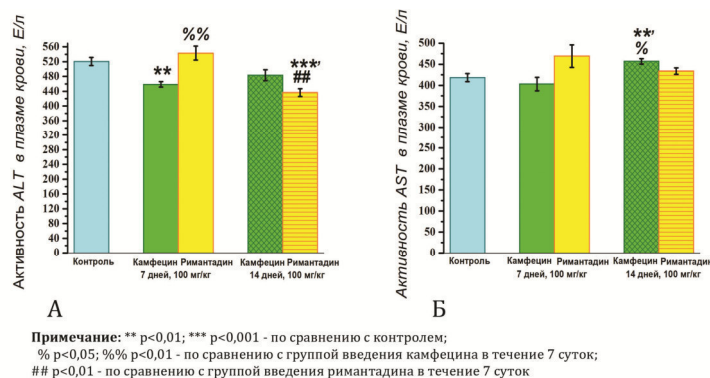


Рис. 1. Активность АЛТ (А) и АСТ (Б) в плазме крови, Е/л

В ходе эксперимента обнаружено, что при введении обоих лекарственных агентов в течение первой недели активность ГГТ достоверно снижалась по сравнению с группой контроля (рис. 2А, $p<0,001$ для камфецина и $p<0,01$ для римантадина). При более длительном введении наблюдали достоверное увеличение активности ГГТ при введении и камфецина, и римантадина по сравнению с группами введения тех же агентов в течение 7 суток ($p<0,01$ и $p<0,05$ соответственно), но достоверных отличий по сравнению с контролем при этом не обнаружили.

При анализе концентрации глюкозы в плазме крови выявлено достоверное увеличение концентрации глюкозы в группе введения камфецина в течение 7 суток по сравнению с группами контроля и римантадина (рис. 2Б, $p<0,05$ и $p<0,05$ соответственно). Достоверного различия между остальными экспериментальными группами показано не было.

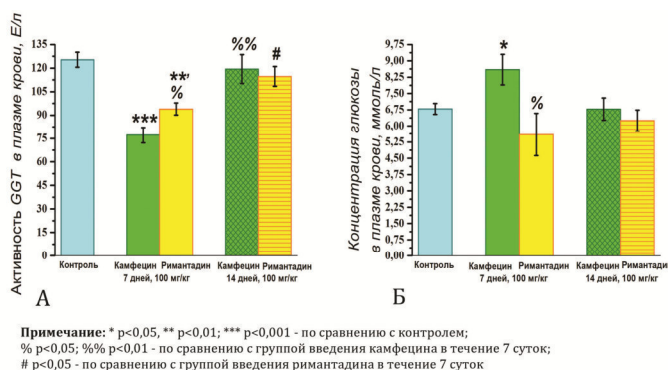


Рис. 2. Активность ГГТ в плазме крови, Е/л (А) и концентрация глюкозы в плазме крови, ммоль/л (Б)

Камфецин при введении в течение 14 суток вызывает достоверное снижение концентрации общего билирубина в плазме крови по сравнению с группой камфецина 7 суток (рис. 3А, $p < 0,05$). А при введении в течение одной недели камфецин вызывает достоверное повышение концентрации конъюгированного билирубина по отношению ко всем группам сравнения (рис. 3Б, $p < 0,05$ для контроля, $p < 0,05$ для группы римантадина 7 суток и $p < 0,001$ для группы камфецина 14 суток).

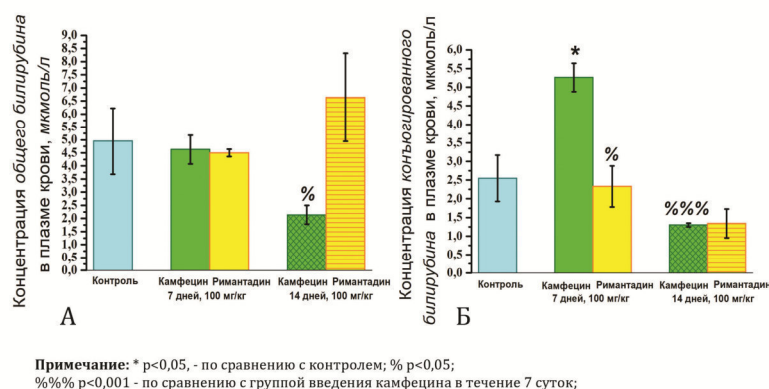


Рис. 3. Концентрация общего (А) и конъюгированного (Б) билирубина в плазме крови, $\mu\text{mol/L}$

Выводы: При сравнении влияния камфецина и римантадина, было выявлено, что при 7-суточном введении новый противовирусный агент камфецин проявляет более физиологичное действие на паренхиму печени, однако вызывает выраженную гипергликемическую реакцию в отличие от римантадина. Снижение активности ГГТ при том же сроке введения может являться следствием реализации защитного механизма против окислительного стресса. Длительное введение камфецина в течение 14 суток в дозировке 100 мг/кг массы вызывает выраженный функциональный ответ, оцениваемый обменом билирубина, активностью ГГТ и АСТ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vaccines against influenza WHO position paper – November 2012 / World Health Organization (WHO) // Wkly Epidemiol Rec. – 2012. – V. 87(47). – P. 461–476.
2. Пат. 2530 RU 2530554 МПК A61K31/015. Применение 1,7,7 – триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илиден-аминоэтанола в качестве ингибитора репродукции вируса гриппа / Яровая О.И., Соколова А.С., Третьяк Т.С., Зарубаев В.В., Киселев О.И., Салахутдинов Н.Ф. Заявлено 22.04.2013; Оpubл. 10.10.2014, Бюл. № 28. – 8 с.
3. Zarubaev V.V., Garshinina A.V., Tretiak T.S., Fedorova V.A., Shtro A.A., Sokolova A.S., Yarovaya O.I., Salakhutdinov N.F. Discovery of a new class of antiviral compounds: Camphor imine derivatives // European J. of Medicinal Chemistry. – 2015. – № 105. – P. 263–273
4. Rogachev A.D., Yarovaya O.I., Fatianova A.V., Lavrinenko V.A., Amosova E.V., Zarubaev V.V., Pokrovsky A.G., Salakhutdinov N.F. Untargeted search and identification of metabolites of antiviral agent camphene in rat urine by liquid chromatography and mass spectrometry and studying their distribution in organs following peroral administration of the compound // J. of Pharm. and Biomedical Analysis. – 2018. – №161. – P. 383–392.

УДК 159.9.072:618.177

**ФАКТОРЫ РИСКА НАРУШЕНИЯ ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ-МЛАДЕНЦЕВ,
РОДИВШИХСЯ ПОСРЕДСТВОМ ЭКО**

А.В. Силаева, О.В. Терехина, С.Б. Лещинская

Научный руководитель: профессор, д. п. н. Т.Г. Бохан

Национальный исследовательский Томский государственный университет

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: silaevaav@yandex.ru

RISK FACTORS OF MENTAL HEALTH OF INFANT BORN BY IVF

A.V. Silaeva, S.B. Leshchinskaia, O.V. Terekhina

Scientific Supervisor: Prof., Dr. T.G. Bokhan

National Research Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin Str., 36, 634050

E-mail: silaevaav@yandex.ru

Abstract. *The quality of the parental relationship to the child can directly and indirectly affect the mental health of children: from creating favorable conditions for further development to the risk of mental and behavioral disorders. The aim of the study was to study the influence of parental attitude towards a child in mothers with different types of conception on the characteristics of his mental health. 231 women with natural conception and 110 women with IVF conception were interviewed in 9 month after childbirth. It was found that risk factors for mental health of children from different types of conception are a high level of overprotection and a low ability of the mother to show sensitivity and responsiveness to the needs of the child, responding to them properly. Low self-rated of the mother's health is an indirect risk factor for the child's mental health.*

Введение. Возрастной период от рождения до года принято считать особо восприимчивым к воздействию разного рода факторов, влияющих на психическое благополучие ребёнка [1]. Например, отсутствие сензитивности (чувствительность к потребностям ребёнка), респонсивности (способность отвечать на потребности ребёнка должным образом), непоследовательность реакций родителей, гиперопека, холодный и контролирующий стиль воспитания, враждебность могут быть причинами: развития ненадежной привязанности; проблем экстернализации; формирования трудного темперамента; использования карательных стратегий во взаимодействии с ребенком; тревоги; депрессии; агорафобии и социальной фобии [1, 2]. При этом, родительское поведение зависит от ряда факторов, а его формирование при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) проходит в условиях, способных сказываться на отношении к ребёнку [1, 3]. В связи с этим цель исследования: изучение влияния родительского отношения к ребёнку у матерей с разным типом зачатия на особенности его психического здоровья.

Материалы и методы. Исследование проводилось с использованием комплексного, сравнительного методов и следующих психодиагностических методик: опросник о чувствах и отношении к ребёнку [1], самооценка состояния здоровья [4], шкала темперамента ребёнка [5]. Статистические методы: описательная статистика, U критерий Манна-Уитни, регрессионный анализ пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 26. Анализ медиации проводился с использованием

программы PROCESS. Выборка включала 231 женщину с естественным зачатием (ЕЗ) (средний возраст 28 лет) и 110 женщин с беременностью ЭКО (ЭКО) (средний возраст 32 года) и их детей в возрасте 9 месяцев. Сбор данных проводился спустя 9 месяцев после родов в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации и с соблюдением процедуры сбора информированного согласия на базе: НИИ акушерства, гинекологии и перинатологии (г. Томск), ОГБУЗ «Областной перинатальный центр им. И.Д. Евтушенко» (г. Томск), Центра ВРТ Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск), Медицинского центра «Авиценна» (г. Новосибирск), Сибирского института репродукции и генетики человека (г. Барнаул).

Результаты. Результаты обеих групп по шкалам, свидетельствующим о родительском отношении к ребенку: восприятие качеств ребенка, воспринимаемое влияние родителей, взаимодействие с ребенком, родительская самоэффективность, нормативные и высокие. При этом обнаружено, что у женщин прошедших через ЭКО значимо выше ($U=9868$ при $p=0,03$), чем в группе сравнения, выражена характеристика связанная с уровнем успешности выполнять задачи, связанные с ролью родителя: способность успокоить, развлечь, привлечь внимание ребёнка, осуществить хороший уход за ним (родительская самоэффективность), а также чрезмерная забота о безопасности и защите ребёнка (гиперопека) ($U=9887$ при $p=0,04$). При этом различия по данным субшкалам свидетельствовали об отличии в пределах нормы. По переменным родительского отношения к ребёнку: восприятие качеств ребёнка, воспринимаемое влияние родителей, взаимодействие с ребёнком (родительское тепло), родительское враждебно-реактивное поведение значимых различий не обнаружено. Что касается психологического ресурса родительского поведения – самооценки состояния здоровья, то большая часть женщин обеих групп одинаково оценили собственное состояние здоровья как «хорошее». Паттерны «суетливого/сложного» типа трудного детского темперамента отмечались у 12% детей ЭКО и у 18,7% детей ЕЗ, «скучный» - у 21% ЭКО и 18,8% ЕЗ, «неприспосабливаемый» - у 30% детей обеих групп, «непредсказуемый» - у 25% детей ЭКО и у 37% детей ЕЗ, что значимо больше ($U=6290$ при $p=0,01$), чем в группе ЭКО. В обеих группах с помощью множественного регрессионного анализа, где в качестве зависимых переменных выступали показатели психического здоровья младенцев (сложный, неприспосабливаемый, скучный, непредсказуемый типы трудного детского темперамента), а в качестве предикторов показатели взаимоотношения с ребенком, были получены три значимые регрессионные модели ($p \leq 0,05$). В группе женщин, прошедших через ЭКО прямым предиктором формирования в поведении у ребёнка паттернов сложного/суетливого ($\beta=-0,412$, $p=0,003$, $R^2=0,269$), скучного ($\beta=-0,357$, $p=0,011$, $R^2=0,234$), непредсказуемого ($\beta=-0,429$, $p=0,002$, $R^2=0,267$) типов трудного детского темперамента являлся низкий уровень родительской самоэффективности. В группе женщин с ЕЗ прямым предиктором формирования в поведении у ребёнка паттернов сложного/суетливого типа ($\beta=-0,231$, $p=0,012$, $R^2=0,174$) являлся низкий уровень или отсутствие родительской самоэффективности в совокупности с гиперопекой ($\beta=0,231$, $p=0,002$, $R^2=0,213$), указанный показатель вносил значимый вклад в становление неприспосабливаемого типа ($\beta=-0,302$, $p=0,001$, $R^2=0,213$); отдельно гиперопека вносила значимый вклад в формирование скучного типа ($\beta=0,194$, $p=0,015$, $R^2=0,111$) трудного детского темперамента. Таким образом, факторами риска психического здоровья ребенка в период младенчества являлась низкая способность матери определить потребности младенца и ответить на них должным образом, а в совокупности с гиперопекой - способствовала тому, что ребёнок своим поведением

воспринимался матерью как капризный, требующий повышенного внимания, трудный, апатичный, неспособный к самостоятельности. В соответствии с представленными моделями был осуществлен медиаторный анализ с целью выявления со стороны материнского здоровья факторов, косвенно влияющих на особенности психического здоровья ребёнка. Были выявлены модели, в которых медиатором являлась самооценка материнского здоровья: две модели в группе ЭКО и одна модель в группе ЕЗ. В группе ЭКО при добавлении фактора «самооценка здоровья» в модель связи между показателем материнского отношения к ребёнку «родительская самоэффективность» и сложным типом трудного детского темперамента, сокращался коэффициент регрессии ($\beta_1 - \beta_2 = 0,224$) и увеличился процент объясненной дисперсии на 22% (ΔR). При добавлении того же фактора в модель связи между показателем материнского отношения к ребёнку «родительская самоэффективность» и непредсказуемым типом трудного детского темперамента, сокращался коэффициент регрессии ($\beta_1 - \beta_2 = 0,263$) и увеличивался процент объясненной дисперсии на 29% (ΔR). В группе с естественным зачатием при добавлении значений самооценки здоровья в итоговую модель связи между показателем материнского отношения к ребёнку «родительская самоэффективность» и скучным типом трудного детского темперамента сокращался коэффициент регрессии ($\beta_1 - \beta_2 = 0,088$) и увеличивался процент объясненной дисперсии на 1,3% (ΔR).

Заключение. Обобщая результаты проведенного исследования следует, что факторами риска психического здоровья детей от разного типа зачатия является высокий уровень гиперопеки и низкая способность матери проявлять чувствительность и отзывчивость к потребностям ребёнка, отвечая на них должным образом. При этом низкая самооценка здоровья матери является косвенным фактором риска психического здоровья ребёнка.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-313-90040.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Boivin M., Perusse D., Dionne G., Sayssset V., Zoccolillo M., Tarabulsy G.M., Tremblay N. The genetic–environmental etiology of parents’ perceptions and self-assessed behaviors toward their 5-month-old infants in a large twin and singleton sample // *Journal of Child Psychology and Psychiatry*. – 2005. – № 46. – P. 612–630.
2. Maltby L.E., Callahan K.L., Friedlander S., Shetgiri R. Infant temperament and behavioral problems: analysis of high-risk infants in child welfare // *Journal of Public Child Welfare*. – 2019. – №13 (5). – P. 512–528.
3. Якупова В.А., Захарова Е.И. Внутренняя материнская позиция женщин, беременность которых наступила с помощью ЭКО. // *Национальный психологический журнал*. – 2015. – № 1(17). – С. 96–104.
4. World Health Survey 2002: individual questionnaire (2002), World Health Organization, Geneva, 61 p., available at: <https://www.who.int/responsiveness/surveys/individual.pdf> (accessed 26 May 2020)
5. Bates J.E., Freeland C.A.B., Lounsbury M.L. Measurement of infant difficulty // *Child Development*. – 1979. – № 50 (3). – P. 794–803.

УДК 577.29

СОЗДАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПЛАЗМИД, КОДИРУЮЩИХ РНК-ГИДЫ, ДЛЯ CAS9-ОПОСРЕДОВАННОЙ АКТИВАЦИИ ЭКСПРЕССИИ ИНТЕГРИНА ALPHA V BETA 3 В КЛЕТКАХ

Е.В.Сухинина

Научный руководитель: к.б.н., А.Г. Першина

Сибирский государственный медицинский университет, Центр биологических исследований и биоинженерии,

Россия, г. Томск, Московский тракт, 2 ст18, 634050

E-mail: suhininaev@mail.ru

DESIGN OF A RECOMBINANT PLASMIDS ENCODING SINGLE GUIDE RNA FOR CAS9-MEDIATED GENE ACTIVATION OF INTEGRIN ALPHA V BETA 3 IN CELLS

E.V. Sukhinina

Scientific Supervisor: Candidate of Sciences in Biology, A.G.Pershina

Siberian State Medical University, Centre of biological research and bioengineering, Russia, Tomsk,

Moskovskiy tr., 2 b18, 634050

E-mail: suhininaev@mail.ru

Abstract. *Alpha v beta 3 integrin is a promising target for anticancer therapy. In the present study, we constructed recombinant plasmids aimed at enhancing the expression of integrin alpha 5 beta 3 via a CRISPR/Cas9-mediated gene activation system. These plasmids are designed to creation of a cell line with integrin overexpression for testing new drugs.*

Введение. Интегрины – рецепторы клеточной адгезии, которые осуществляют связь клетки с внеклеточным матриксом. $\alpha_v\beta_3$ интегрин известен как вовлеченный в процессы ангиогенеза и метастазирования и широко представлен на эндотелии опухолевых сосудов и на мембране многих типов опухолевых клеток. [1, 2] Этот рецептор может быть использован в качестве мишени для противоопухолевой терапии. Одним из подходов является модификация RGD-пептидами лекарственных препаратов и диагностических агентов для их адресного накопления в опухолях. [3] Разработка и испытание таких препаратов требует наличия модельных клеточных линий с повышенной экспрессией $\alpha_v\beta_3$. Для создания данных линий можно применить систему направленной активации транскрипции эндогенных генов на основе комплекса *CRISPR/Cas9 Synergistic Activation Mediator (SAM)*. [4] *SAM*-система состоит из трех компонентов: dCas (белка Cas9 без эндонуклеазной активности), направляющей РНК (sgRNA) и активационных доменов. SgRNA необходима, чтобы направить белковый комплекс к генам *itgav* и *itgb3*, она содержит вариативный участок узнавания целевой последовательности (длиной 20 п.н.), который формирует гетеродуплекс с ДНК, и константный участок, обеспечивающий взаимодействие с компонентами активационного комплекса Cas9-SAM. Информацию о константной последовательности sgRNA несет плаزمид *lenti sgRNA (MS2) (AddGene)*. Чтобы добавить в эту плазмиду последовательность вариативного участка, необходимо провести дизайн олигонуклеотидов и выполнить

клонирование. Тогда полученная плаزمида будет кодировать *sgRNA*, направляющую комплекс активации транскрипции к промоторам тех генов, которые мы хотим активировать.

Цель. Получить рекомбинантные плазмиды для *SAM*-опосредованного увеличения экспрессии α , и β_3 субъединиц интегрин, кодируемых генами *itgav* и *itgb3*.

Экспериментальная часть. Дизайн праймеров для клонирования участка последовательности *sgRNA* выполняли с использованием программы *Cas9 Activator Tool (ZhangLab)* (табл. 1). Клонирование последовательности *sgRNA* в плазмиду *lenti sgRNA (MS2) (AddGene)* проводили согласно протоколу, предложенному Zhang и соавторами. [5] При этом применяли реакцию GoldenGate, которая основана на использовании рестриктазы класса IIS – *BsmBI (Fermentas)*. [6] После получения рекомбинантной плазмиды проводили трансформацию компетентных бактерий штамма *Escherichia coli Stbl3*. *Stbl3* культивировали на LB-агаре с добавлением ампициллина. По несколько колоний с каждой чашки отбирали для выращивания в LB-среде с ампициллином. Выделение плазмидной ДНК выполняли при помощи набора *Plasmid Miniprep (Evrogen)*. Для скрининга рекомбинантных плазмид их обрабатывали рестриктазой *BsuI (Сибэнзим)* – при успешном клонировании один из сайтов узнавания рестриктазы удаляется из последовательности плазмидной ДНК. Размер рестрикционных фрагментов определяли методом электрофореза в агарозном геле (рисунок 1). Секвенирование для подтверждения правильности клонированной последовательности выполнено сотрудниками НИИ Медицинской Генетики на секвенаторе *ABI 3130XL (Applied Biosystems)*.

Результаты. Выполнен дизайн праймеров для клонирования, специфичных для активации каждого из целевых генов *itgav* и *itgb3* человека и мыши, и проведено их клонирование в плазмиду *lenti sgRNA (MS2)*. После трансформации клеток *E.coli Stbl3* наблюдали рост колоний на селективной среде. Для дальнейшего скринингового анализа было отобрано по 3 случайных колонии с каждой культуральной чашки. На основании данных рестрикционного анализа было отобрано 15 плазмид, не расщепленных эндонуклеазой *BsuI*. Соответствие клонированных последовательностей ожидаемым было подтверждено данными секвенирования отобранных плазмид.

Заключение. В результате проведенных исследований были сконструированы рекомбинантные плазмиды с вставкой 20 п.н., кодирующих участок *sgRNA*, который отвечает за направление комплекса *CRISPR/Cas9 Synergistic Activation Mediator (SAM)* к промоторным областям генов – *itgav* и *itgb3* мыши и *ITGAV* и *ITGB3* человека. Полученные плазмиды могут быть использованы для *SAM*-опосредованной активации экспрессии с целью получения клеточных линий человека и животных с повышенной экспрессией интегрин α , β_3 .

Таблица 1

Последовательности участков sgRNA, направляющих SAMк соответствующим генам

Организм	Ген	ID транскрипта	Расстояние до сайта начала транскрипции	Варибельная последовательность sgRNA
<i>Homo sapiens</i>	ITGAV	NM_001145000	98	GGAGCTGGAGGAGGAAGTGG
			164	ACAGGCGGCGACTGCACTCA
	ITGB3	NM_000212	46	GCAGCGGGAGGGGAGGGGAG
			25	GGAAAAGCGGCCGCGGGCGG
<i>Mus musculus</i>	itgav	NM_008402	116	GCGCGCTGCCACTGCCCCC
			67	CCGGTCCTCCGAGGCTGTCC
	itgb3	NM_016780	2	ACGGGGTGGGTGGGACACAG
			57	GGCAGGGTCCAGGCGTGAGC

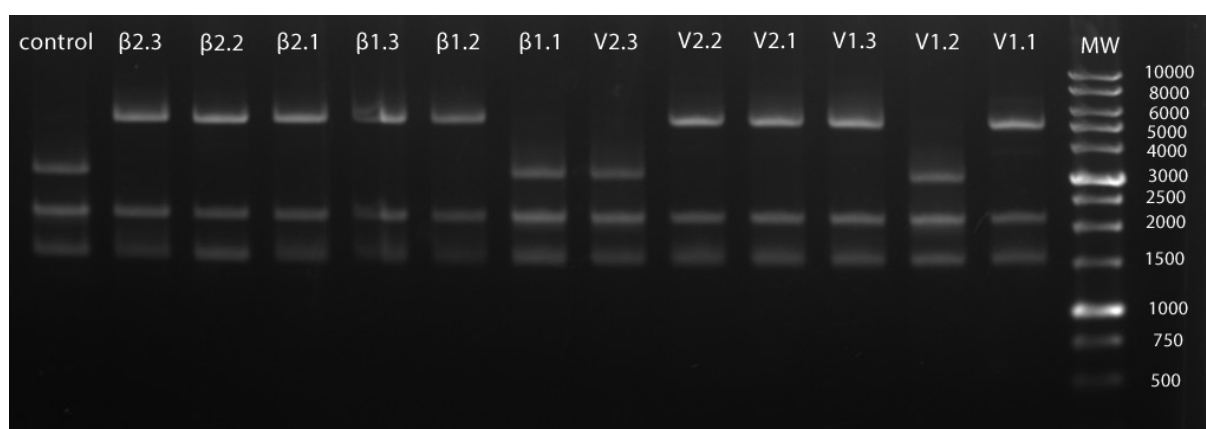


Рис. 1. Репрезентативное изображение результатов электрофореза в агарозном геле рекомбинантных плазмид после обработки рестриктазой *BsuI* (СибЭнзим) в течение 1 ч при 37 °С. MW – маркер молекулярного веса 500-10000 кДа (СибЭнзим). Control – плаزمиды *lenti sgRNA* (MS2) после обработки рестриктазой *BsuI* (СибЭнзим) в течение 1 ч при 37 °С

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Seguin L, Desgrosellier JS, Weis SM, Cheresch DA. Integrins and cancer: regulators of cancer stemness, metastasis, and drug resistance // Trends Cell Biol. – 2015. – no. 25. – pp. 234-40.
2. Hamidi, H., Ivaska, J. Every step of the way: integrins in cancer progression and metastasis // Nat Rev Cancer. – 2018– no. 18. – pp. 533–548.
3. Danhier F, Le Breton A, Préat V. RGD-based strategies to target alpha(v) beta(3) integrin in cancer therapy and diagnosis // Mol Pharm. – 2012. – no. 9(11) – pp. 2961-73.
4. Konermann S, Brigham MD, Trevino AE, et al. Genome-scale transcriptional activation by an engineered CRISPR-Cas9 complex // Nature. – 2015.– no. 517. – pp. 583-588.
5. Zhang, Y., Yin, C., Zhang, T. et al. CRISPR/gRNA-directed synergistic activation mediator (SAM) induces specific, persistent and robust reactivation of the HIV-1 latent reservoirs // SciRep. – 2015. – no. 5. – pp. 16277
6. Engler C, Marillonnet S. Golden Gate cloning // Methods Mol Biol. – 2014. – no. 1116. – pp. 119-31.

УДК 615.468.21

**КОМПОЗИТНЫЕ СЕГНЕТОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ, СОДЕРЖАЩИЕ
ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ АГЕНТ, ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК
РОТОВОЙ ПОЛОСТИ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

Т.С. Твердохлебова¹, А.Д. Коняева², А.Р. Коврижина¹

Научный руководитель: н.с., к.т.н. Е.Н. Болбасов

¹Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г. Томск, проспект Ленина, 30, 634050

²Сибирский государственный медицинский университет,

Россия, г. Томск, Московский тракт, 2, 634050

E-mail: aramat_tts@mail.ru

**COMPOSITE FERROELECTRIC MEMBRANES CONTAINING AN ANTI-INFLAMMATORY
AGENT FOR REGENERATION OF ORAL MUCOSA: A PILOT STUDY**

T.S. Tverdokhlebova¹, A.D. Konyaeva², A.R. Kovrizhina¹

Scientific Supervisor: researcher, Ph.D., E.N. Bolbasov

¹Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

²Siberian State Medical University, Russia, Tomsk, Moscovsky trakt, 2, 634050

E-mail: aramat_tts@mail.ru

***Abstract.** In the present study, we performed the pilot results of studies on the formation of composite fluoropolymer piezoelectric membranes based on a copolymer of Vinylidene fluoride with tetrafluoroethylene (VDF-TeFE) and Polyvinylpyrrolidone (PVP) by the electrospinning method with addition of anti-inflammatory agent tryptanthrin-6-oxime (Trp-Ox). Using scanning electron microscopy, the effect of the PVP content on the structure of the formed membranes was studied. Histological studies were performed on laboratory animals.*

Введение. Сегнетоэлектрические свойства фторполимерных мембран (ФПМ), а именно способность индуцировать электрический заряд под воздействием внешних механических напряжений, позволяют осуществлять электростимуляцию регенерации тканей и кожных покровов за счет воздействия окружающих тканей без внешнего источника электрической энергии, что исключает накопление в тканях продуктов электролиза. Благодаря этим свойствам ФПМ в настоящее время активно исследуются возможности их применения для регенерации различных тканей, в частности слизистых оболочек ротовой полости. Включение противовоспалительных агентов в объем таких ФПМ позволит создавать мембраны, стимулирующие регенерацию поврежденных тканей посредством электрофизических и химических (фармакологических) свойств.

Экспериментальная часть. Для изготовления ФПМ использовали сополимер винилиденфторида с тетрафторэтиленом (VDF-TFE), обладающий сегнетоэлектрическими свойствами, поливинилпирролидон (PVP), обеспечивающий транспорт противовоспалительного агента в зону регенерации. Триптантрин-6-оксим (Trp-Ox) – аналог природного алкалоида триптантрина – был синтезирован по методике, описанной в статье [1], и использован в качестве противовоспалительного

агента, поскольку он является специфическим ингибитором с-Jun N-терминальной киназы (JNK). Смесь ацетона (C_3H_6O) и диметилсульфоксида (C_2H_6OS), взятых в соотношении 90/10 масс %, использовали в качестве смесового растворителя полимеров для приготовления прядильных растворов. Для проведения исследований были изготовлены два типа мембран. В качестве контрольной были сформированы мембраны из сополимера VDF-TFE без каких-либо добавок. Мембраны сравнения (PVP/Trp-Ox) были сформированы из прядильного раствора, содержащего полимеры и противовоспалительный агент в следующем соотношении: 90 масс % VDF-TFE, 10 масс % PVP, при этом содержание Trp-Ox в растворе составляло 187 мг. Исследование структуры сформированных мембран проводили методом сканирующей электронной микроскопии (JEOL JCM-6000, Япония). Диаметр волокон определяли по SEM-изображениям в пяти различных полях зрения с использованием программного обеспечения Image J 1.38 (National Institutes of Health, США). Изучение химического состава мембран было проведено методом EDS (JEOL JED 2300, Япония). Гистологические исследования влияния Trp-Ox на скорость регенерации дефекта слизистой оболочки ротовой полости (размером 7x4 мм) были проведены на 10-ти белых самцах крыс линии *Wistar* массой 220-280 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Оперативное вмешательство проводилось под внутримышечным наркозом препаратом "Золетил". Эксперимент над животными проводился согласно "Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных".

Результаты. Установлено, что все полученные мембраны сформированы переплетающимися между собой волокнами с нормальным распределением размеров по диаметру, имеют хорошо развитую взаимосвязанную пористость (Рисунок 1). Добавление PVP и Trp-Ox приводит к уменьшению среднего диаметра волокон (Таблица 1).

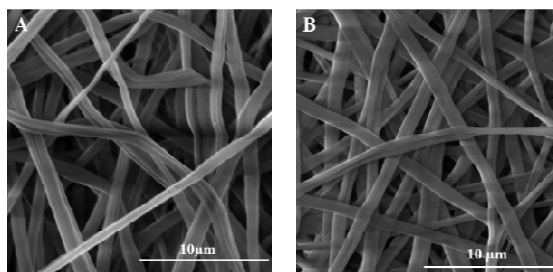


Рис. 1. Структура сформированных мембран А) контроль; В) PVP/Trp-Ox

Таблица 1

Свойства исследуемых образцов

Тип мембраны	$d_{ср}$, μm	Химический состав				
		C	N	O	F	C/F
Контроль	$0,74 \pm 0,23$	$37,34 \pm 1,40$	$9,57 \pm 0,60$	$2,93 \pm 1,21$	$50,16 \pm 2,57$	$0,74 \pm 0,05$
PVP/Trp-Ox	$0,67 \pm 0,27$	$40,01 \pm 1,08$	$12,23 \pm 0,24$	$4,14 \pm 0,13$	$43,63 \pm 1,44$	$0,92 \pm 0,04$

Состав контрольных мембран представлен углеродом, азотом, кислородом, фтором, отношение C/F в мембране составило $0,74 \pm 0,05$ (Таблица 1). В PVP/Trp-Ox мембранах увеличивается массовое содержание углерода на $\sim 7\%$, массовое содержание азота на $\sim 28\%$, и кислорода на $\sim 41\%$. При этом содержание фтора уменьшилось на $\sim 15\%$. Отношение C/F составило $0,92 \pm 0,04$, что свидетельствует о формировании композитных волокон.

Наблюдения над лабораторными животными показывают, что на 12-е сутки исследования после снятия ФПМ с раневой поверхности у крыс обеих групп наблюдалась восстановленная слизистая оболочка с небольшим рубцом. Размер рубца в контрольной группе ~ 2,3 мм, в группе PVP/Tgr-Ox ~ 0,3 мм. При этом в последней мягкие ткани восстановились практически в полном объеме.

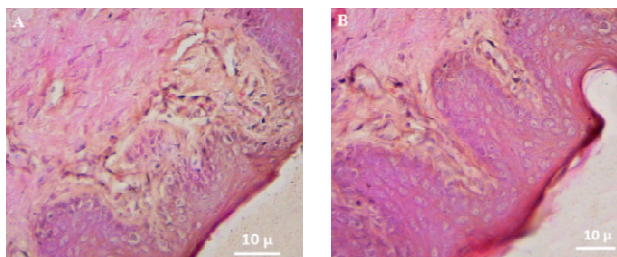


Рис. 2 Гистологические срезы тканей А) контроль; В) PVP/Tgr-Ox
(Окраска: гематоксилин, эозин; Увеличение: 400)

Гистологически во всех группах (Рисунок 2) отмечалось уменьшение количества кровеносных сосудов и клеточных элементов в грануляционной ткани, что является проявлением феномена дегидратации. Вместо грануляционной ткани можно было наблюдать сформированную молодую рыхлую волокнистую соединительную ткань и плотную волокнистую соединительную ткань. При использовании контрольной мембраны наблюдалось уменьшение воспалительного инфильтрата и быстрое созревание рыхлой волокнистой соединительной ткани. Так как на всех этапах регенерации раневого дефекта использовалась ФПМ, защищающая раневой дефект от микробной контаминации и агрессивного воздействия химических, физических и механических раздражителей, восстановление мягких тканей происходило в достаточном объеме, это особенно ярко выражено в группе PVP/Tgr-Ox, где использовалась ФПМ, модифицированная противовоспалительным агентом. Из чего можно было сделать вывод, что использование ФПМ с сегнетоэлектрическими свойствами и модифицированными препаратом Tgr-Ox при лечении раневых дефектов способствовало более физиологичному восстановлению тканей. Таким образом, можно судить об эффективности использования полимерной сегнетоэлектрической ФПМ в челюстно-лицевой хирургии при ведении раневых дефектов слизистой оболочки полости рта.

Заключение. Сформированы композиционные сегнетоэлектрические мембраны на основе сополимера VDF-TFE, PVP и добавкой противовоспалительного агента Tgr-Ox. Установлено, что добавка PVP и Tgr-Ox уменьшает средний диаметр волокон, формирующих мембрану. Добавка PVP и Tgr-Ox изменяет химический состав мембран, увеличивая C/F на 24 %. Исследования способности регенерировать слизистую оболочку ротовой полости показывают, что ФПМ на основе PVP и Tgr-Ox способствуют более эффективному процессу регенерации.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта 20-33-90159

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schepetkin, I.A.; Khlebnikov, A.I.; Potapov, A.S.; Kovrizhina etc. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of 11H-indeno[1,2-b]quinoxalin-11-one derivatives and tryptanthrin-6-oxime as c-Jun N-terminal kinase inhibitors // Eur. J. Med. Chem. – 2019. – V. 161. – P. 179-191.

УДК 616.24-006.6:575.853

**ВЗАИМОСВЯЗЬ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ КЛЕТОК МОНОЦИТАРНО-
МАКРОФАГАЛЬНОГО РЯДА С РАЗЛИЧНЫМИ ВАРИАНТАМИ ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ
ИЗМЕНЕНИЙ РЕСПИРАТОРНОГО ЭПИТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ
РАКОМ ЛЕГКОГО**

А.А. Федоров

Научный руководитель: д.м.н. М.Н. Стахеева

Научно-исследовательский институт онкологии Томского национального исследовательского
медицинского центра РАН

Россия, г. Томск, ул. Савиных, 12/1, 634028

E-mail: anton.fedorov.2014@mail.ru

**THE RELATIONSHIP OF THE PHENOTYPIC PROFILE OF MONOCYTE-MACROPHAGE
LINEAGE CELLS WITH VARIOUS TYPES OF PRETUMOR CHANGES OF THE RESPIRATORY
EPITHELIUM IN PATIENTS NON-SMALL CELL LUNG CANCER**

A.A. Fedorov

Scientific adviser: Ph. D.M.N. Staheeva

Scientific Research Institute of Oncology of Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy
of Sciences, Russia, Tomsk, Savinykh st. 12/1, 634028E-mail: anton.fedorov.2014@mail.ru

***Abstract.** The mechanism of the relationship between pretumor changes in the respiratory epithelium of the bronchi and the risk of progression of NSCLC remains unclear. We assume that the relationship between reactive changes in the bronchial mucosa at a distance from the neoplasm may be due to constitutive genotypic characteristics, which can be regulated by the functional signatures of cells of the monocytic-macrophage lineage. Macrophages have high functional plasticity, and the type of polarization determines the nature of the influence of this pool of cells on the properties of the tumor and the course of the malignant process as a whole. The purpose of this study is to study the relationship of the phenotypic profile of cells of the monocytic-macrophage lineage with various types of pretumor changes in the respiratory epithelium of patients with non-small cell lung cancer. As a result of the study, we found that with the growth of pretumor changes in the respiratory epithelium of the bronchi in patients with NSCLC, an uncharacteristic response of induced macrophages to the polarizing effect of M1 and M2 inducers was observed. The data obtained will form the basis for further research.*

Введение. Одной из основных причин смертности при раке легкого является высокий риск прогрессирования после проведенного противоопухолевого лечения [1]. В последние годы была показана прогностическая ценность состояния респираторного эпителия бронхов в отдалении от первичного опухолевого узла [2]. Известно, что предопухолевые изменения на фоне хронического воспаления в респираторном эпителии бронхов являются важным этапом злокачественной трансформации, а морфологические изменения - предположительно косвенным отражением иммуновоспалительных

процессов в опухоли, что и определяет путь прогрессирования заболевания [3]. Клетки моноцитарно-макрофагального ряда являются ключевыми в патогенезе злокачественных новообразований [4]. Участие которых, прежде всего, связано с пополнением различных клеточных популяций опухолевого микроокружения. Высказываются предположения о том, что статус моноцитов в периферической крови может определять свойства, которые проявят в опухоли тканевые макрофаги [5]. Клетки моноцитарно-макрофагальной линии обладают высокой пластичностью, т.е. их фенотип может изменяться под влиянием различных факторов внутренней среды и микроокружения [6]. Целью данной работы является изучение взаимосвязи фенотипического профиля клеток моноцитарно-макрофагального ряда с различными вариантами предопухолевых изменений респираторного эпителия у больных немелкоклеточным раком легкого

Экспериментальная часть. В исследование вошли 3 группы пациентов: 1 - пациенты без предопухолевых изменений (n=4); 2 - сочетанная форма БКГ (норма и очаговая БКГ; БКГ и плоскоклеточная метаплазия и дисплазия) (n=8); 3 - пациенты с изолированной базальноклеточной гиперплазией (БКГ) (n=6). Объектом исследования послужила гепаринизированная кровь, из которой были выделены мононуклеарные клетки на градиенте плотности с использованием среды для отмывки RPMI-1640 (Invitrogen) и фиколла (Amersham). Отмытые мононуклеарные клетки разводились в полной культуральной среде до концентрации 2×10^6 клеток/мл (среда DMEM, L-глутамин, пенициллин и стрептомицин, 10 % термически инактивированной фетальной сыворотки телят (Sigma)). В количестве 2×10^6 в 1 мл полной культуральной среды мононуклеарные клетки помещали в лунки 24-луночного плоскодонного планшета для культивирования клеток (Greetmed). Во все лунки добавляли стимулятор макрофагального роста (М-КСФ) в дозе 20 нг/мл. Через 5 суток инкубации клеток в атмосфере 5% CO₂ добавляли 10 нг/мл липополисахарида (ЛПС, Sigma) или 10 нг/мл интерлейкина-4 (ИЛ-4, Sigma). Через 24 часа полученные клетки собирали и окрашивали для исследования фенотипа. Оценка морфологических изменений бронхиального эпителия у больных НМРЛ проводилась на образцах ткани мелких бронхов, забранных во время операции на расстоянии 3-5 см от первичной опухоли. Образцы ткани фиксировали в 10% формалине в течение 18–24 часов и далее заливали в парафин. Из фиксированных образцов были подготовлены срезы толщиной 5 мкм. Микропрепараты были окрашены растворами гематоксилина и эозина по стандартному протоколу. Морфологическое исследование было проведено с помощью светового микроскопа «Axio Scope A1» (Carl Zeiss, Германия). Статистическая обработка данных осуществлялась в пакете программ «Statistica», версия 6.1. Для оценки различий между показателями групп больных с предопухолевыми изменениями и группы с отсутствием предопухолевых изменений у больных НМРЛ, использовался критерий Манна - Уитни.

Результаты. У больных НМРЛ без предопухолевых изменений по сравнению с больными с очаговой БКГ на уровне статистической тенденции было отмечено увеличение количества макрофагов, экспрессирующих CD68+ (1,95; 1,65-4,0 против 0,3; 0,0-0,5) в фоновых пробах. В ответ на ЛПС у больных НМРЛ без предопухолевых изменений на уровне статистической тенденции было отмечено снижение количества макрофагов, экспрессирующих CD14+ (4,2; 1,95-4,70 против 7,5; 4,5-9,6) и CD14+16+ (2,6; 0,85-3,80 против 4,3; 3,8-7,8). У больных НМРЛ с изолированной БКГ по сравнению с больными, имеющими сочетанную форму предопухолевых изменений, на уровне статистической значимости было выявлено увеличение количества макрофагов экспрессирующих CD68+163- (0,7; 0,5-0,9 против 0,00; 0,00-0,15) в

фоновых пробах, а также наблюдалось увеличение плотности рецепторов CD68+ при добавлении ИЛ-4 (3129; 2879-4188 против 1940; 1653-2505). На уровне статистической тенденции у больных с изолированной БКГ по сравнению с больными имеющими сочетанную форму предопухолевых изменений при добавлении в культуру ИЛ-4 было отмечено снижение плотности рецепторов CD16+ (3098; 2430-3783 против 5867; 3710-10017), а в ответ на ЛПС - снижение плотности рецепторов CD16+ (2372; 2254-3098 против 4343; 3234-8975), снижение количества макрофагов, экспрессирующих CD14+16- (0,3; 0,2-0,4 против 1,45; 0,35-3,6) и увеличение количества макрофагов, экспрессирующих CD68+163- (1,1; 0,5-1,1 против 0,0; 0,0-0,65). Добавление ЛПС в культуру больных НМРЛ с изолированной БКГ по сравнению с культурой больных НМРЛ без предопухолевых изменений приводило к статистически значимому увеличению плотности рецепторов CD206 на поверхности клеточной мембраны (6388; 4526-6391 против 2570; 2349-3047). На уровне статистической тенденции у больных НМРЛ с изолированной БКГ по сравнению с больными без предопухолевых изменений в фоновых пробах было отмечено снижение плотности рецепторов CD16+ (3371; 2767-3812 против 5087; 3964-5929) и снижение количества макрофагов, экспрессирующих CD68 (1,1; 0,20-1,40 против 1,95; 1,65-4,00)

Заключение. По мере нарастания предопухолевых изменений в респираторном эпителии бронхов у больных НМРЛ наблюдалось снижение общего количества макрофагов в фоновых пробах. В ответ на индуктор M1 поляризации отмечено увеличение маркеров M2 поляризации; увеличение популяции переходных моноцитов и снижение популяции классических моноцитов. В ответ на индукторы M1 поляризации было отмечено увеличение общего количества макрофагов и снижение клеток, несущих на своей поверхности рецепторы CD16+.

Данная работа поддержана грантом РФФИ №20-315-90055.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Defraene G., Dankers F., Price G. et al. Multifactorial risk factors for mortality after chemotherapy and radiotherapy for non-small cell lung cancer // *Radiotherapy and oncology: journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. - Vol. 152. – P. 117-125.
2. Панкова О.В. Морфофункциональные особенности респираторного эпителия при немелкоклеточном раке легкого и хроническом воспалении и их связь с прогрессией опухолевого и предопухолевого процессов: Автореф... дис. д. биол. наук. – СПб, 2018. – 44 с.
3. Beane J. E., Mazzilli S. A., Campbell J. D. et al. Molecular subtyping reveals immune alterations associated with progression of bronchial premalignant lesions // *Nature communications*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1856.
4. Cassetta, L., & Pollard, J. W. Targeting macrophages: therapeutic approaches in cancer // *Nature reviews. Drug discovery*. – Vol. 17. – No. 12. – P. 887–904.
5. Poschke I., Mao Y., Adamson L. et al. Myeloid-derived suppressor cells impair the quality of dendritic cell vaccines // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2012. – Vol. 61. – No. 6. – P. 827–838.
6. Atri C., Guerfali F. Z., Laouini, D. Role of Human Macrophage Polarization in Inflammation during Infectious Diseases // *International journal of molecular sciences*. – 2018. – Vol. 19. – No. 6. – P. 1801.

УДК 617-089.844

**ВЛИЯНИЕ ПЛЕНОК ПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ НА ТЕЧЕНИЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ
IN VIVO БУЛЛЕЗНОЙ КЕРАТОПАТИИ**

Е.О. Филиппова, А.Д. Журавлева, Н.М. Иванова

Научный руководитель: профессор, д.ф.-м.н. Ю.Ю. Крючков

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: katerinabosix@mail.ru

INFLUENCE OF POLYLACTIC ACID FILMS ON *IN VIVO*-INDUCED BULLOUS KERATOPATHY

E.O. Filippova, A.D. Zhuravleva, N.M. Ivanova

Scientific Supervisor: Prof., Dr. U.U. Kruchkov

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: katerinabosix@mail.ru

Abstract. *In this work, the effect of influence of polylactic acid films on in vivo-induced bullous keratopathy was investigated. An analysis of the data showed that the implantation of polylactic acid films into the anterior chamber of eye after in vivo-induced bullous keratopathy does not aggravate the disease process and can be taken into the further development of material for creating a corneal implant from it.*

Введение. В настоящее время одним из перспективным направлений в лечении тяжелого, прогрессирующего заболевания – буллезной кератопатии [1] – является использование полимерных пленок как имплантатов в барьерной кератопластике. Особый интерес представляют биodeградируемые материалы и мультипотентные клетки, способные заместить утраченный пул эндотелиоцитов роговицы, купировать отек, воспалительные явления и восстановить прозрачность роговой оболочки. Роль биodeградируемого полимера сводится в формировании временной подложки для подсаженной на нее культуры клеток. Однако остается открытый вопрос выбор нужного полимера и реакция организма на него, в частности – роговицы.

Несмотря на обилие литературных источников по применению полимолочной кислоты в различных формах изделий в медицине [2], в частности – офтальмологии [3], информации, касаемо влиянию данного полимера на протекание индуцированной буллезной кератопатии при имплантации материала, мало, что определяет цель данного исследования.

Цель исследования – определить влияние γ -стерилизации на свойства тонких пленок полимолочной кислоты и влияния данного материала на течение индуцированной *in vivo* буллезной кератопатии.

Материалы и методы исследования. Эксперименты *in vivo* были выполнены на 14 кроликах породы *Sylvilagus bachmani* массой 2,5-3,0 кг. Работа выполнялась с согласия локального этического комитета (№ 7892 от 13.05.2019 г). В условиях операционной под наркозом 12 животным моделировали буллезную кератопатию путем механического повреждения и удаления эндотелия роговицы одного из глаз. Спустя 2 недели после повреждения роговой оболочки и развития заболевания животные были поделены на следующие группы: 1 группа – группа модели заболевания – животные с воспроизведением

буллезной кератопатии ($n=4$); 2 группа – группа сравнения – животные с индуцированной буллезной кератопатией ($n=4$), которым проводили консервативное лечение в виде инстилляций 0,3% раствора Тобрекса по 1 капле 4 раза в день, препарата 0,01% Баларпана по 1 капле 3 раза в день, закладывания 5% Корнерегеля за нижнее веко по 4 раза в день; 3 группа – основная группа – животные с индуцированной буллезной кератопатией ($n=4$), которым осуществляли имплантацию тонких пленок полимолочной кислоты диаметром 8,0 мм следующим образом. Предварительно с 11 до 13 часов формировали тоннельный разрез на роговице размером 5 мм у лимба, через которой имплантировали материал и подшивали его края к роговой оболочке узловыми швами на 9 и 6 часах нитками 10/00. Тоннельный разрез ушивали непрерывным швом, в послеоперационном периоде закапывали растворы Тобрекса по 1 капле 4 раза в день, препарата 0,01% Баларпана по 1 капле 3 раза в день, закладывания 5% Корнерегеля за нижнее веко по 4 раза в день.

Тонкие пленки из полимолочной кислоты были вылиты путем растворения порошка полимолочной кислоты (PURASORB® PL 10, Нидерланды) в хлороформе (CHCl_3) (Экрос, Россия). Толщина пленок, определялась с помощью оптиметра «ИКВ-3», составила ($15,0 \pm 0,1$) мкм. Стерилизация пленок осуществлялась с использованием гамма-установки «Исследователь №52» с источником радионуклида ^{60}Co дозой γ -облучения – 15 кГр (Si-детектор).

В ходе эксперимента животным проводили наружный осмотр, фото регистрацию визуальных изменений. Выведенных из эксперимента животным выполняли энуклеацию, полученный материал фиксировали для световой микроскопии. Полученные в ходе гистологического исследования срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Подсчет удельного объема сосудов, клеток, щелей между коллагеновыми волокнами осуществлялся при помощи окулярной сетки Автандилова на 50 точек (=100 %), для чего в десяти независимых полях зрения определялось количество определяемых структур, попадающих на строму, вычислялся удельный объем (%).

Для статистического анализа полученных результатов исследований применялся статистический пакет IBM SPSS Statistics 20. Для описания количественных переменных рассчитывались их средние значения, среднеквадратические отклонения, медианы, максимальные и минимальные значения. Различия между группами рассчитывали методом t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Поскольку по многим параметрам распределение не являлось нормальным, для расчетов использовались методы непараметрической статистики. Для оценки исходной сопоставимости сформированных групп для количественных данных применяли критерий Краскела-Уоллиса, для номинальных – точный F-критерий Фишера. Для оценки достоверности межгрупповых различий использовали U-критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. По данным световой микроскопии у животных первой группы отмечались характерные для рассматриваемого заболевания изменения. В переднем эпителии толщиной $50,4 \pm 5,4$ мкм обнаруживались дистрофически измененные эпителиоциты – $23,4 \pm 3$ клеток в поле зрения. Передняя пограничная мембрана была неравномерна по своей толщине. Коллагеновые волокна собственного вещества роговицы местами гидратированы, с повышено извитым ходом, между ними обнаруживались пространства удельным объемом $30,4 \pm 5,3\%$, которые можно расценить как наличие отека в строме роговой оболочки. Задняя пограничная мембрана утолщена, эндотелий отсутствовал. Местами, спустя

месяц после индуцирования заболевания, обнаруживались новообразованные сосуды в собственном веществе роговицы, удельным объемом $5,6 \pm 3,2\%$.

У животных второй группы по данным световой микроскопии толщина переднего эпителия составила $38,5 \pm 5,9$ мкм, что на 11,9% меньше значения первой группы ($p > 0,05$) и 6,3% больше третьей ($p > 0,05$). В собственном веществе коллагеновые волокна имели умеренно повышенный извитой ход, удельный объем щелей между ними составил $28,3 \pm 6,4\%$, $p > 0,05$. Как и в первой, третьей группах в строме роговицы второй группы встречались новообразованные сосуды удельным объемом $5,1 \pm 3,3\%$, $p > 0,05$.

У животных третьей группы передний эпителий толщиной $32,2 \pm 4,6$ мкм представлял собой пласт эпителиоцитов, $p < 0,05$. Собственное вещество роговицы представлено коллагеновыми волокнами, между которыми визуализировались пространства-щели удельным объемом $22,1 \pm 3,7\%$, что на 8% меньше значения первой группы. Местами встречались тонкостенные сосуды удельным объемом $6,8 \pm 2,5\%$, $p > 0,05$. Ближе к задней пограничной мембране наблюдалась лейкоцитарная инфильтрация, удельным объемом $\sim 3\%$.

Согласно полученным данным, в группе животных с имплантированной в переднюю камеру пленкой ПМК образуются новообразованные сосуды и инфильтрируются ближе к задней пограничной мембране лейкоциты удельным объемом не более 3%. Лейкоцитарная инфильтрация является реакцией роговицы на искусственный материал, а также свидетельством протекания первичной альтерации – воспалительного процесса вследствие индуцирования заболевания. Появления сосудов – еще один признак течения воспаления в роговой оболочке, вызванное буллезной кератопатией. Причем, сосуды объемом до 6% встречались во всех группах с индуцированным заболеванием. Имплантация материала не способствовала увеличению удельного объема тонкостенных сосудов.

Заключение. Имплантация пленок ПМК в переднюю камеру при буллезной кератопатии не усугубляет процесс заболевания и может быть принят в дальнейшую разработку материала для создания из него роговичного имплантата.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-415-703005.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Heeren T., Holz F. G., Löffler K. U. Bullous keratopathy // *Ophthalmology*. – 2013. – Vol. 110. – P. 1069 – 1072.
2. Ershuai Z., Chuanshun Z., Jun Y., Hong, S., Xiaomin Z., Suhua L., Yonglan W., Lu S., Fanglian Y. Electrospun PDLA/PLGA composite membranes for potential application in guided tissue regeneration // *Materials Science and Engineering*. – 2016. – Vol. 58. – P. 278 – 285.
3. Sangsanoh P., Waleetorncheepsawat S., Suwantong O., Wutticharoenmongkol P. *In vitro* biocompatibility of schwann cells on surfaces of biocompatible polymeric electrospun fibrous and solution-cast film scaffolds // *Biomacromolecules*. – 2007. – Vol. 8, № 5. – P. 1587 – 1594.

УДК 57.085.2

КАЛЛУСНАЯ КУЛЬТУРА *HEDYSARUM ALPINUM* L. ИСТОЧНИК ФЛАВОНОИДОВМ.В.Филонова¹, С. Кумар²Научный руководитель: к.фарм.н., доцент кафедры фармакологии Ю.С. Федорова²¹Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, Томск пр. Ленина, 36, 634050

²Кемеровский государственный медицинский университет,

Россия, Кемерово, ул. Ворошилова 22А, 650029

E-mail: Maria-Caurus7@yandex.ru

CALLUS CULTURE *HEDYSARUM ALPINUM* L. AS A SOURCE OF FLAVONOIDSM. V. Filonova¹, S. Kumar²Scientific Supervisor: PhD in Pharmacy, Associate Professor Yu.S. Fedorova²¹National Research Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin Prospekt 36, korp. 1, 634050.²Kemerovo State Medical University, Russia, st. Voroshilov 22A, 650029e-mail: Maria-Caurus7@yandex.ru

Abstract. The possibility of using of the callus culture of *Hedysarum alpinum* L. grown in vitro as an alternative source of flavonoids was shown in the present study. Rutin, quercetin, hyperoside, hediziride, polistachoside, and avicularin were identified with HPLC in grown biomass. Replacement of *Hedysarum alpinum* L. natural medicinal raw materials with guaranteed biomass is a perspective way to preserve the resource of endangered species of medicinal plants.

Введение. Ассортимент лекарственных препаратов и биологически активных добавок различного действия пополняется препаратами природного происхождения, что объясняется открытием новых фармакологических свойств лекарственных растений. Наряду с этим, природный запас ресурсов лекарственных растений быстро истощается, и многие виды находятся под угрозой исчезновения, поэтому поиск альтернативных источников растительного сырья является весьма актуальным. В качестве такого источника можно рассматривать культуры клеток и тканей растений, выращиваемые в условиях *in vitro* и позволяющие получать достаточную биомассу в контролируемых условиях. Замена природного лекарственного сырья на биомассу, получаемую с помощью биотехнологии, на сегодняшний день представляет собой перспективный способ, позволяющий сохранить ресурс исчезающих видов лекарственных растений.

Представляет интерес *Hedysarum alpinum* L. (копеечник альпийский, сем. *Fabaceae*) – лекарственное растение, применяющееся в народной и официальной медицине как противовирусное, противовоспалительное, психостимулирующее, кардиопротекторное средство [1, 2]. Фармакологические свойства данного растения обусловлены наличием в надземной части растений большого количества флавоноидов и ксантонов [3-5]. Копеечник альпийский в настоящее время занесен Красные книги России, Украины, и Европейский Красный список [6]. Поскольку природный ресурс *Hedysarum alpinum*

L. сравнительно ограничен, актуальным является введение его в культуру *in vitro* для получения биомассы данного вида растения.

Цель: изучить состав флавоноидов, содержащихся в каллусной культуре *Hedysarum alpinum* L.

Экспериментальная часть. Каллусную культуру *Hedysarum alpinum* L. выращивали на стандартной агаризованной питательной среде по прописи Мурасиге-Скуга (MS) с добавлением гормонов α -НУК (α -нафтилуксусная кислота) и 6-БАП (6-бензиламинопурина) в условиях отсутствия света. Время субкультивирования составляло 30 суток, после чего каллус отделяли от питательной среды и высушивали при температуре 25°C в темном защищенном от действия света месте.

Выделение флавоноидов из полученной биомассы осуществляли трехкратной экстракцией 96 %-ным этанолом. Обнаружение суммы флавоноидов осуществляли методом фитохимического скрининга. Разделение и идентификацию флавоноидов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе системы Альянс («Waters») с детектором с фотодиодной матрицей на колонке Alliance C18 (4,6×150), в режиме элюирования: 0,1% раствор муравьиной кислоты и ацетонитрил в соотношении (1:9). Объемная скорость потока элюента – 1,0 мл/мин, объем вводимой пробы 10 мкл, время элюирования 30 минут [7]. В качестве образцов сравнения использовали стандарты флавоноидов.

Результаты. Выращиваемый каллус представлял собой белую массу средней плотности с рыжим окрашиванием на контакте с питательной средой. Фитохимический скрининг показал наличие в каллусной культуре копеечника альпийского биологически активных веществ группы флавоноидов. Сумма флавоноидов, выделенная из культуры, представляла собой кристаллический порошок желтовато-бежевого цвета, без запаха. Результаты фитохимического скрининга подтверждают наличие данной группы биологически активных веществ (табл. 1).

Таблица 1

Результаты фитохимического скрининга выделенной суммы флавоноидов из каллусной культуры
Hedysarum alpinum L

№ п/п	Реакция	Результат
1	Цианидиновая проба (проба Шинода)	Ярко-оранжевое окрашивание
2	Реакция Хензеля-Хьерхаммера	Ярко-желтое окрашивание, желто-зеленая флуоресценция
3	Реакция Вильсона	Ярко-желтое окрашивание, желто-зеленая флуоресценция в УФ-свете
4	Реакция с хлоридом окисного железа (III)	Коричневое окрашивание
5	Реакция с раствором аммиака	Желтое окрашивание
6	Реакция с алюминием хлоридом	Желтое окрашивание, желто-зеленая флуоресценция

Результаты идентификации данной группы методом ВЭЖХ представлены на рисунке 1.

С помощью ВЭЖХ удалось разделить и определить основные флавоноиды каллусной культуры копеечника альпийского – рутин, кверцетин, гиперозид, хедизирид, полистахозид и авикулярин. Оптические спектры идентифицированных флавоноидов совпадают с оптическими спектрами стандартных образцов.

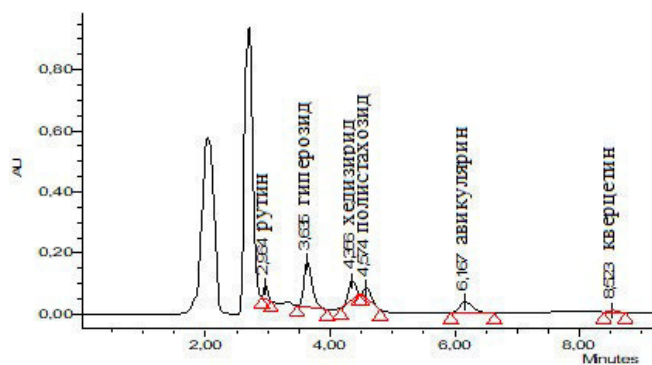


Рис. 1. ВЭЖХ-хроматограмма флавоноидов, выделенных из калусной культуры
Hedysarum alpinum L

Заключение. Проведенные исследования показали наличие группы флавоноидов в калусной культуре *Hedysarum alpinum L.*, выращенной на питательной среде Мурасиге-Скуга с добавлением гормонов α -НУК и 6-БАП в условиях отсутствия света. В полученной биомассе были идентифицированы следующие флавоноиды – рутин, кверцетин, гиперозид, хедизирид, полистахозид и авикулярин, что доказывает перспективность данной калусной культуры в качестве продуцента этих биологически активных веществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Норбоева Б.Д. Виды копеечников - перспективное лекарственное растительное сырье // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2019. – № 4. – С. 30-32.
2. Федорова Ю.С., Южалин А.Е., Сухих А.С., Котова Т.В., Захарова Ю.В. Экстракт травы *Hedysarum alpinum L.* как компонент продуктов функционального питания с кардиопротективным действием // Индустрия питания. – 2019. – Т. 4. – № 3. – С. 52-57.
3. Федорова Ю.С., Кузнецов П.В., Сухих А.С., Минаев К.М. К феномену сравнительного изучения методом ВЭЖХ некоторых типов биологически активных веществ в фитопрепаратах копеечников *H. neglectum*, *H. theinum*, *H. alpinum* // Ползуновский вестник. – 2010. – № 3. – С. 215-217.
4. Федорова Ю.С., Сухих А.С., Кузнецов П.В. Ключевые биологически активные вещества фитопрепаратов на основе растений рода копеечник // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2011. – Т. 11. – № 5. – С. 708-713.
5. Федорова Ю.С., Сухих А.С., Кузнецов П.В. Сравнительный хроматографический анализ фракционного состава фитопрепаратов растений рода копеечник // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2011. – Т. 11. – № 4. – С. 575-580.
6. Федорова Ю.С., Кузнецов П.В., Черкасова Т.Л. Особенности развития ботанических исследований растений рода *Hedysarum* // Медицина в Кузбассе. – 2013. – Т. 12. – № 1. – С. 63-66.
7. Береговых Г.В., Денисова С.В., Баркин И.М., Мазур Е.А. Исследование флавоноидов травы *Eupatorium cannabinum L.* // в сборнике: Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы. Сборник материалов IV Межвузовской научно-практической конференции, посвященной 100-летию Самарского государственного медицинского университета. Под ред. В.А. Куркина. – Самара, 2019 – С. 71-75.

УДК 577.21

**МУТАЦИОННЫЙ ЛАНДШАФТ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЁГКОГО У БОЛЬНЫХ С
ВЫСОКИМ РИСКОМ РЕЦИДИВИРОВАНИЯ**

А.А. Хозяинова^{1,2}, Т.С. Геращенко¹, Р.С. Воробьев¹

Научный руководитель: к.м.н. Т.С. Геращенко

¹НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра РАН,
Россия, г. Томск, пер. Кооперативный 5, 634050

²Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: khozyainova@onco.tnime.ru

**MUTATIONAL LANDSCAPE OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER IN PATIENTS AT HIGH
RECURRENCE RISK**

A.A. Khozyainova^{1,2}, T.S. Gerashchenko¹, R.S. Vorobev¹

Scientific Supervisor: T.S. Gerashchenko, PhD

¹Cancer Research Institute of Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences
Russia, Tomsk, Kooperativny Street, 5, 634050

²Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenina av., 36, 634050

E-mail: khozyainova@onco.tnime.ru

Abstract. *It is known that morphological changes in the bronchial epithelium at a distance from the tumor focus in patients with NSCLC may predispose to a certain clinical course of the disease. Thus, the combination of basal cell hyperplasia and squamous metaplasia is a predictor of local recurrence. However, the reasons for this connection are still unclear. The aim of this study was to identify the mutational landscape of NSCLC in patients at high risk of relapse. The study included 12 patients with NSCLC of stage T1-4N0-3M0, divided into two groups depending on the presence of morphological changes in the type of combined basal cell hyperplasia and squamous metaplasia. Exomic DNA libraries of patients were sequenced to assess the mutational landscape. As a result, it was found that patients with the presence of combined changes and persons without it differ from each other in the number and spectrum of genetic disorders.*

Введение. Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) развивается на фоне прогрессирующих патологических изменений бронхолегочного эпителия. Так, плоскоклеточному раку легкого (ПРЛ) предшествует базальноклеточная гиперплазия (БКГ), плоскоклеточная метаплазия (ПМ) и дисплазия I-III степеней, тогда как прекурсором аденокарциномы (АК) считается атипическая аденоматозная гиперплазия [1]. БКГ и ПМ, описанные в качестве предопухолевых изменений ПРЛ, могут также наблюдаться и у больных АК в отдалении от уже сформировавшегося опухолевого очага [2]. Коллективом НИИ онкологии Томского НИМЦ было установлено, что сочетание БКГ и ПМ (БКГ+ПМ) в эпителии мелких бронхов связано с высокой частотой рецидивирования [3]. В то же время у больных с другими типами морфологических изменений или их отсутствием риск рецидивов минимален. Данная

ассоциация, несмотря на различные механизмы канцерогенеза, справедлива как для ПРЛ, так и для АК, однако её механизм все еще остается неизвестным.

Целью данной работы явилось изучение мутационного ландшафта НМРЛ с высоким риском рецидивирования.

Экспериментальная часть. В исследование были включены 12 пациентов (38-77 лет) с НМРЛ (T1-4N0-3M0), разделенные на две группы: 1) с сочетанием БКГ и ПМ и высоким риском рецидивирования (n=8) и 2) без предопухолевых изменений и, соответственно, низким риском рецидивирования (n=4). Тип предопухолевых изменений оценивался в образцах мелких бронхов, полученных в ходе оперативного вмешательства по поводу НМРЛ на расстоянии 3-5 см от опухоли, с помощью окрашивания гематоксилин-эозином и световой микроскопии. ДНК выделялась из свежезамороженных образцов опухолевой ткани легкого с помощью набора DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, США) и периферической крови набором Blood DNA Isolation Mini Kit (Norgen, Канада). Секвенирование проводилось на платформе NextSeq 500 (Illumina, США) с предварительной подготовкой библиотек набором SureSelect XT Human All Exon v.7 (Agilent, США). Биоинформатический анализ данных секвенирования выполнялся с помощью пайплайна GATK и инструмента ANNOVAR.

Результаты. У пациентов с БКГ и ПМ в эпителии бронхов обнаружены мутации в 2274 генах, в группе без морфологических изменений нарушения наблюдались в 994 генах. Для обеих групп характерны нарушения в 244 одних и тех же генах, из которых наиболее часто изменёнными были онкосупрессор *TP53*, *TTN* (титин) и *USH2A* (ушерин). По литературным данным мутации *TP53* встречаются примерно в 50% НМРЛ, а *TTN* и *USH2A* часто подвергаются изменениям в НМРЛ у курильщиков [4, 5].

Тем не менее, между пациентами исследуемых групп обнаружен ряд существенных различий. Так, среднее количество мутаций на образец в группе больных с высоким риском рецидивирования в 1,25 раза больше по сравнению с пациентами без морфологических изменений в слизистой бронхов. Помимо этого, для пациентов с БКГ+ПМ среднее количество генов-драйверов канцерогенеза, содержащих мутации, больше в 1,5 раза, чем у больных с отсутствием респираторных изменений. Так, мутации в гене-драйвере *KMT2D* встречались в 50% случаев с БКГ и ПМ, в противоположной группе - с 25% частотой. Известно, что нарушения *KMT2D* ассоциированы с низкой безрецидивной выживаемостью при НМРЛ [6]. Важно отметить, что в группе БКГ+ПМ обнаружены специфичные нарушения в генах *MDGA2*, *NPAS3*, *MUC16* и др. (50% пациентов), и *CDH23*, *EDNRB* и др. (37,5%). *MDGA2* является белком клеточной адгезии и опухолевым супрессором, способным подавлять миграцию и инвазивные способности злокачественных клеток [7]. *NPAS3*, член семейства нейрональных факторов транскрипции PAS, также обладает опухоль-супрессорными свойствами посредством регуляции апоптоза, миграции и инвазии [8]. *MUC16* принадлежит к семейству муцинов, участвующих в защите эпителиальных тканей и иммунной регуляции. По некоторым данным, *MUC16* является маркером прогрессирования НМРЛ. Так, гиперэкспрессия *MUC16*, в том числе вызванная мутациями, усиливает пролиферацию, миграцию и инвазию опухолевых клеток [9, 10]. Молекула межклеточной адгезии, кадгерин 23 (*CDH23*), является супрессором миграции злокачественных клеток [11], а рецептор эндотелина типа В (*EDNRB*) описан как опухолевый супрессор при АК [12].

Заключение. НМРЛ у больных с наличием БКГ и ПМ в эпителии мелких бронхов характеризуется повышенной мутационной нагрузкой (в т.ч. в генах-драйверах канцерогенеза) и специфичными нарушениями в генах, вовлеченных в регуляцию опухолевой прогрессии. Полученные результаты могут быть одним из объяснений высокого риска рецидивирования у пациентов с сочетанием БКГ и ПМ.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (№ 20-75-10060) и выполнена на оборудовании ЦКП «Медицинская геномика» Томского НИМЦ и ТРЦКП Томского государственного университета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Denisov E. V. et al. Premalignant lesions of squamous cell carcinoma of the lung: The molecular make-up and factors affecting their progression //Lung Cancer. – 2019. – V. 135. – P. 21-28.
2. Панкова О.В. Морфофункциональные особенности респираторного эпителия при немелкоклеточном раке легкого и хроническом воспалении и их связь с прогрессией опухолевого и предопухолевых процессов: Автореф. Дис. ... док. биол. наук. – Санкт-Петербург, 2018. – 47 с.
3. Способ прогнозирования рецидивов при немелкоклеточном раке легкого / Панкова О.В., Перельмутер В.М. Патент на изобретение RUS 2498305 от 10.11.2013.
4. Mogi A., Kuwano H. TP53 mutations in nonsmall cell lung cancer //Journal of Biomedicine and Biotechnology. – 2011. – V. 2011. – P. 583929 (9).
5. Yu X. J. et al. Smoking alters the evolutionary trajectory of non-small cell lung cancer //Experimental and therapeutic medicine. – 2019. – V. 18., №. 5. – P. 3315-3324.
6. Ardeshir-Larijani F. et al. KMT2D Mutation Is Associated With Poor Prognosis in Non-Small-Cell Lung Cancer //Clinical lung cancer. – 2018. – V. 19., №. 4. – P. e489-e501.
7. Wang K. et al. MDGA2 is a novel tumour suppressor cooperating with DMAP1 in gastric cancer and is associated with disease outcome //Gut. – 2016. – V. 65., №. 10. – P. 1619-1631.
8. Moreira F. et al. NPAS3 demonstrates features of a tumor suppressive role in driving the progression of Astrocytomas //The American journal of pathology. – 2011. – V. 179., №. 1. – P. 462-476.
9. Kanwal M. et al. MUC16 overexpression induced by gene mutations promotes lung cancer cell growth and invasion //Oncotarget. – 2018. – V. 9., №. 15. – P. 12226.
10. Chen Y. et al. MUC16 in non-small cell lung cancer patients affected by familial lung cancer and indoor air pollution: clinical characteristics and cell behaviors //Translational lung cancer research. – 2019. – V. 8., №. 4. – P. 476.
11. Sannigrahi M. K. et al. The strong propensity of Cadherin23 for aggregation inhibits cell migration //Molecular oncology. – 2019. – V. 13. – №. 5. – P. 1092-1109.
12. Wei F. et al. Role of endothelin receptor type B (EDNRB) in lung adenocarcinoma //Thoracic cancer. – 2020. – V. 11., №. 7. – P. 1885-1890.

УДК: 616.22-006.6:616.9]-08-036

**ВИРУС ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА ПРИ РАКЕ ГОРТАНИ: СВЯЗЬ С ЭФФЕКТОМ ЛЕЧЕНИЯ И
ПРОГНОЗОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ**И.А. Цыденова, М.М. Цыганов, М.К. Ибрагимова

Научный руководитель: к.б.н., М.М. Цыганов

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр РАН

Россия, г.Томск, пер. Кооперативный, 5, 634009

E-mail: tsydenova422@gmail.com**HUMAN PAPILLOMAVIRUS IN LARYNGEAL CANCER: CONNECTION WITH THE EFFECT OF
THE TREATMENT AND PROGNOSIS OF THE DISEASE**I.A. Tsydenova, M.M. Tsyganov, M.K. Ibragimova

Scientific Supervisor: Ph.D. M.M. Tsyganov

Oncology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences

Russia, Tomsk, per. Cooperativniy, 5, 634009

E-mail: tsydenova422@gmail.com

Abstract. Recently, there has been a marked increase in the number of studies proving the correlation between the human papillomavirus (HPV) and the process of carcinogenesis. Accordingly, laryngeal cancer (LC) can result from the combined effects of smoking, alcohol consumption, air pollution, and HPV infection. There are studies suggesting that HPV-positive tumor tissue status significantly improves survival and is a strong predictor of oropharyngeal cancer. However, there is still no information on the effect of HPV-positive status on survival and treatment for LC. Thus, the aim of this work is to assess the presence of HPV in a tumor in patients with laryngeal cancer and to assess the relationship of HPV with the treatment effect. The study included 109 patients with laryngeal cancer. As a result of the study, the prevalence of HPV HRS was 11.9% (13 out of 109 patients). The analysis of the relationship between the presence of HPV in tumor tissue and the effect of radiation therapy did not show statistically significant differences.

Введение. За последние десятилетия, несмотря на улучшение прогноза при некоторых видах рака, показатели выживаемости при раке головы и шеи так и остаются на весьма низком уровне. Более того, РГШ является десятым по частоте распространенности раком в мире, заболеваемость которого превышает полмиллиона в год [1]. Следует отметить, что одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований области головы и шеи по-прежнему остается рак гортани (РГ). В основе возникновения предрака и рака гортани лежит длительное существование хронических воспалительных процессов, индуцированных и поддерживаемых комплексным воздействием ряда этиологических начал. В настоящее время считается, что именно вирусная инфекция является основной причиной роста заболеваемости плоскоклеточным раком области головы и шеи, причем его частота увеличивается у молодых пациентов, а также у некурящих и непьющих [2]. Существуют исследования, в которых утверждается, что ВПЧ-позитивный статус опухоли значительно улучшает выживаемость и

является сильным прогностическим фактором для рака ротоглотки. Экспрессия белка p16 (INK4A) оказывает существенное влияние на лечение и выживаемость у пациентов с данным злокачественным новообразованием, получавших традиционную лучевую терапию [3]. Но несмотря на это подобная корреляция слабо сохраняется при раке гортани. Таким образом, целью данной работы являются оценка наличия ВПЧ в опухоли у больных раком гортани и оценка связи ВПЧ с эффектом лечения.

Экспериментальная часть. В исследование включены 109 пациентов больных плоскоклеточным раком гортани I-III стадии, низкой, умеренно и высокой степенью дифференцировки, с морфологически верифицированным диагнозом, которые находились на лечении в клинике НИИ онкологии Томского НИМЦ. В качестве исследуемого материала были использованы биопсийные образцы нормальной и опухолевой ткани гортани ($\sim 10-15 \text{ мм}^3$), взятые при помощи бронхоскопии. ДНК выделяли с помощью набора QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). Выявление и генотипирование ДНК ВПЧ проводили методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на приборе RotorGene 6000 («Corbett Research», Australia) с использованием комплектов реагентов фирмы «Amplisens®» («АмплиСенс® HPV ВКР скрин-титр-FL», кат# R-V31-T-4x (RG,iQ,Mx); «АмплиСенс® HPV ВКР генотип-FL», кат# R-V25(RG,iQ,Mx)) (Москва, Россия). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica 8.0» (StatSoft Inc., USA).

Результаты. Согласно результатам проведенного исследования инфицированность ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) и низкого канцерогенного риска (НКР) в опухолевой ткани и прилежащем неизменном эпителии составила 12,8%. Всего ВПЧ был обнаружен у 14 пациентов. Распространенность ВПЧ ВКР составила 11,9% (13 из 109 пациентов). У 6 пациентов ВПЧ ВКР обнаружен в опухолевой и в нормальной ткани, у 3 пациентов ВПЧ ВКР обнаружен только в опухолевой ткани, и у 4 пациентов – только в нормальной ткани. Распространенность ВПЧ низкого канцерогенного риска составила 1,8% (2 из 109 пациентов). У одного пациента ВПЧ обнаружен в нормальной и опухолевой ткани, и у одного – только в нормальной ткани. В результате генотипирования отмечено, что в первой группе превалирует 16 тип ВПЧ, который встречается в 7 случаях (50%), затем 33 тип – в 2 случаях (14%), 51 тип – в 1 случае (7%), 11 тип – в 1 случае (7%), 39 тип – в 1 случае (7%), 45 тип – в 1 случае (7%), микст-инфекция – в 1 случае (7%).

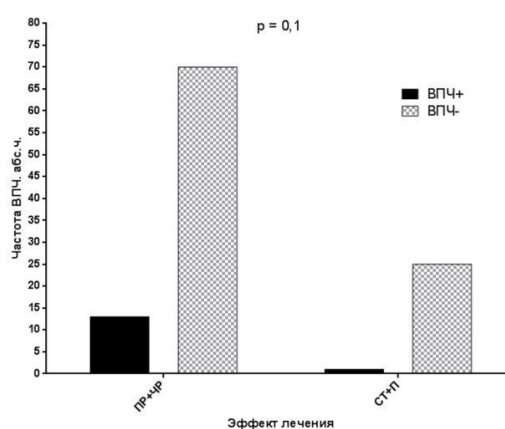


Рис 1. Эффект лечения ВПЧ-положительных и ВПЧ-негативных больных РГ ($p=0,1$)

Примечание: PR – полная регрессия, ЧР – частичная регрессия, СТ – стабилизация, П – прогрессирование

Полученные результаты соответствуют литературным данным, где утверждается, что чаще всего в опухолевых тканях встречается 16-ый тип вируса (от 21,3 до 89,0% всех случаев). Однако, согласно источникам, вторым наиболее распространенным типом вируса является 18 тип ВПЧ, что не соответствует результатам. Далее проведенный анализ связи наличия ВПЧ с эффектом лучевой терапии не показал статистически значимых различий (рис.1). В литературных источниках белок p16 играет решающую роль при раке ротоглотки. В связи с этим у ВПЧ-положительных больных при данном типе рака наблюдается более лучший ответ на лучевую терапию, чем у ВПЧ-негативных. Однако, в исследованиях влияния ВПЧ-ассоциированной экспрессии p16 на исход лучевой терапии наблюдается, что прогноз для пациентов с p16-положительным раком гортани незначительно отличаются от прогноза для пациентов с p16-отрицательного РГ, что согласуется с полученными данными.

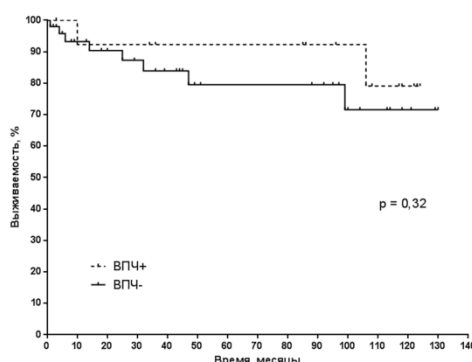


Рис 2. Безрецидивная выживаемость ВПЧ-положительных и ВПЧ-отрицательных больных раком гортани
(log-rank test, $p=0,32$)

В исследованиях опухолей головы и шеи часто отмечают более высокие показатели безрецидивной и общей выживаемости ВПЧ-положительных пациентов по сравнению с ВПЧ-негативными. Однако, в данном исследовании нет статистически значимых различий для безрецидивной выживаемости (log-rank test, $p=0,32$) (рис.2).

Заключение. В результате проведенного исследования не удалось показать связь наличия ВПЧ с эффектом лечения при раке гортани, как и во многих других исследованиях. Также не было отмечено статистически значимых различий для безрецидивной выживаемости у ВПЧ-положительных и ВПЧ-негативных пациентов больных раком гортани. Требуется дальнейшие исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Friedman J.M., Stavas M.J., Cmelak A.J. Clinical and scientific impact of human papillomavirus on head and neck cancer // World J. Clin. Oncol. – 2014. – Vol. 5, № 4. – P. 781–791.
2. Benson E, Li R, Eisele D, Fakhry C. The clinical impact of HPV tumor status upon head and neck squamous cell carcinomas // Oral Oncol. Elsevier Ltd. – 2014. – Vol. 50, № 6. – P. 565–574.
3. Певзнер А. М., Цыганов М. М., Ибрагимова М. К. и др. Вирус папилломы человека и злокачественные новообразования головы и шеи (обзор литературы) // Опухоли головы и шеи . – 2019. – Т.9., № 2. – С. 43–52.

УДК 577.21

ОСОБЕННОСТИ МУТАЦИОННОГО ПРОФИЛЯ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЁГКОГО С ВЫСОКИМ РИСКОМ ГЕМАТОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ

А.А. Щеголева^{1,2}, Р.С. Воробьев^{1,2}, Е.О. Родионов²

Научный руководитель: к.б.н. Е.В. Денисов

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

²Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, НИИ онкологии,
Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, 634009

E-mail: shegolmay@gmail.com

MUTATION PROFILE OF LUNG SQUAMOUS CARCINOMA WITH A HIGH RISK OF DISTANT METASTASIS

A.A. Schegoleva^{1,2}, R.S. Vorobev^{1,2}, E.O. Rodionov²

Scientific Supervisor: E.V. Denisov, PhD

¹Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenina Str. 36, 634050

²Tomsk national research medical center of the Russian academy of sciences
Cancer Research Institute, Russia, Tomsk, Kooperativny Str. 5, 634009

E-mail: shegolmay@gmail.com

Abstract. *In this study, we assessed the mutational landscape of lung squamous carcinoma (LUSC) in patients with isolated basal cell hyperplasia (BCH) in the bronchial epithelium at a distance from the primary tumor who are at high risk of distant metastasis. Three patient groups have been involved in the study: 1) Patients with isolated BCH and metastases; 2) Patients with isolated BCH but without metastases; 3) Patients without premalignant bronchial lesions and metastases. A highly mutable phenotype was found only in patients with isolated BCH and distant metastases. Also, these patients more frequently harbored mutations in genes that encode regulators of cell adhesion and actin cytoskeleton.*

Введение. Плоскоклеточный рак лёгкого (ПРЛ), один из часто встречающихся гистотипов немелкоклеточного рака лёгкого (НМРЛ), развивается на фоне генетических нарушений в клетках эпителия бронхов и характеризуется агрессивным течением. Основными причинами высокой смертности пациентов с раком лёгкого являются позднее обнаружение опухолевого процесса и высокая частота гематогенного метастазирования (ГМ) [1]. Поиск способов предсказания вероятности метастазирования НМРЛ является актуальной задачей.

Известно, что формированию ПРЛ предшествуют морфологические изменения в бронхиальном эпителии, протекающие на фоне хронического воспаления: базальноклеточная гиперплазия (БКГ), плоскоклеточная метаплазия, дисплазия I-III степеней и карцинома *in situ* [2]. Ранее коллективом НИИ онкологии Томского НИМЦ было показано, что наличие изолированной БКГ (ИБКГ) в эпителии мелких бронхов больных НМРЛ связано с высокой частотой ГМ [3]; однако механизмы данной ассоциации не известны.

Целью настоящего исследования была оценка мутационного ландшафта ПРЛ у больных с наличием иБКГ.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены 16 пациентов (от 48 до 71 лет) с ПРЛ, разделенные на три группы: 1) пациенты с иБКГ и ГМ; 2) пациенты с иБКГ, но без ГМ и 3) пациенты без предопухолевых изменений и ГМ. Наличие предопухолевых изменений в бронхах определяли с помощью световой микроскопии гематоксилин-эозин окрашенных срезов формалин-фиксированных образцов нормальной ткани, взятых на расстоянии 3-5 см от первичной опухоли. ДНК выделяли из свежесамороженных образцов опухолевой ткани лёгкого и периферической крови колоночным методом с помощью набора DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, США). Подготовка экзомных библиотек проводилась с помощью набора SureSelect XT v. 7.0 (Agilent, США). Анализ качества и концентрации образцов ДНК и ДНК-библиотек оценивали с помощью флуориметра Qubit 4.0 (ThermoFisher Scientific, США) и станции автоматического гель-электрофореза 4150 Tape Station (Agilent, США). Секвенирование проводили на платформе NextSeq 500 (Illumina, США). Анализ данных секвенирования выполняли с помощью инструментов GATK, Mutect2, ANNOVAR и Enrichr.

Результаты. В ходе исследования обнаружено, что количество генов, содержащих мутации, различается у больных ПРЛ в зависимости от наличия иБКГ и ГМ. Так, у пациентов с иБКГ и ГМ обнаружено 1430 генов с мутациями, из них 1118 генов уникальны для данной группы. Для пациентов с иБКГ, но без ГМ, обнаружены нарушения в 1003 генах, из них 726 генов специфичны для данной группы. У больных ПРЛ без предопухолевых изменений и ГМ мутации найдены в 1181 гене (из них 903 уникальных). Нарушения генов *KIAA0100*, *MAGEC1*, *NCKAP5*, *NLRP12*, *PLIN5*, *PTPRT*, *RAPGEF2*, *TMEM132B*, *PCDH15* и *PLEC* встречались в 50% больных ПРЛ с иБКГ и ГМ, но не встречались у пациентов с иБКГ и без ГМ и пациентов без предопухолевых изменений в бронхах. Среди вышеперечисленных генов, наибольший интерес представляют гены *NCKAP5*, *RAPGEF2*, *TMEM132B* и *PLEC*, которые кодируют регуляторы клеточной адгезии и актинового цитоскелета – ключевых процессов при инвазии опухолевых клеток и метастазировании [4-7]. Кроме того, экспрессия *NCKAP5* связана с плохой общей выживаемостью больных НМРЛ [4], а экспрессия *PLEC*, наоборот, – с лучшей выживаемостью пациентов с ПРЛ [7].

Также у больных с иБКГ и ГМ чаще обнаружены нарушения в генах *MUC16* и *RYR2*, по сравнению с пациентами с иБКГ, но без ГМ (*MUC16*: 50% против 33,30%; *RYR2*: 83,30% против 50%). Мутации в этих генах не встречались у пациентов без предопухолевых изменений в бронхах. Ген *MUC16* кодирует белок семейства муцинов, выполняющий протекторную функцию в эпителии бронхов [8]. Нарушения в этом гене, приводящие к его гиперэкспрессии, способствуют пролиферации, миграции и инвазии клеток рака легкого *in vitro* [8, 9]. Также гиперэкспрессия *MUC16* связана с более поздней стадией НМРЛ и встречается чаще у больных с метастазами [9]. Ген *RYR2* кодирует рианодиновый рецептор, расположенный в кардиомиоцитах и индуцирующий высвобождение Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума в цитоплазму [10]. Однако существуют данные о связи мутаций в гене *RYR2* с более высокой опухолевой мутационной нагрузкой и меньшей выживаемостью пациентов с НМРЛ без прогрессирования [10].

Заключение. Для больных ПРЛ с наличием иБКГ в эпителии бронхов в отдалении от первичного очага и ГМ характерен более выраженный мутаторный фенотип опухоли. Гены, нарушения в

которых уникальны для пациентов с иБКГ и ГМ, кодируют регуляторы клеточной адгезии и актинового цитоскелета.

Работа поддержана Российским научным фондом (№ 20-75-10060) и выполнена на оборудовании ЦКП «Медицинская геномика» Томского НИМЦ и ТРЦКП Томского государственного университета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // *CA Cancer J Clin.* – 2018. – Vol. 68(6). – P. 394-424.
2. Denisov E.V., Schegoleva A.A., Gervas P.A., Ponomaryova A.A., Tashireva L.A., Boyarko V.V., Bukreeva E.B., Pankova O.V., Perelmuter V.M. // Premalignant lesions of squamous cell carcinoma of the lung: The molecular make-up and factors affecting their progression. *Lung Cancer.* – 2019. – Vol. 135. – P. 21-28.
3. Пат. 2489718 РФ. МПК G01N 33/48. Способ прогнозирования возникновения гематогенных метастазов при плоскоклеточном раке легкого // О.В. Панкова, В.М. Перельмутер. Заявлено 22.06.2012; Опубл. 10.08.2013, Бюл. № 22.
4. Mamoor S. The NCK Associated Protein 5, NCKAP5, Is Differentially Expressed in Non-small Cell Lung Cancer and Associates with Patient Survival // *OSF Preprints.* – 2020. – Web.
5. Magliozzi R., Low T.Y., Weijts B.G., Cheng T., Spanjaard E., Mohammed S., van Veen A., Ovaas H., de Rooij J., Zwartkruis F.J., Bos J.L., de Bruin A., Heck A.J., Guardavaccaro D. Control of epithelial cell migration and invasion by the IKK β - and CK1 α -mediated degradation of RAPGEF2 // *Dev Cell.* – 2013. – Vol. 27(5). – P. 574-585.
6. Sanchez-Pulido L., Ponting C.P. TMEM132: an ancient architecture of cohesin and immunoglobulin domains define a new family of neural adhesion molecules // *Bioinformatics.* – 2018. – Vol. 34(5). – P. 721-724.
7. Raymond A.C., Gao B., Girard L., Minna J.D., Gomika Udugamasooriya D. Unbiased peptoid combinatorial cell screen identifies plectin protein as a potential biomarker for lung cancer stem cells // *Sci Rep.* – 2019. – Vol. 9(1). – P. 14954.
8. Kanwal M., Ding X.J., Song X., Zhou G.B., Cao Y. MUC16 overexpression induced by gene mutations promotes lung cancer cell growth and invasion // *Oncotarget.* – 2018. – Vol. 9(15). – P. 12226-12239.
9. Chen Y., Huang Y., Kanwal M., Li G., Yang J., Niu H., Li Z., Ding X. MUC16 in non-small cell lung cancer patients affected by familial lung cancer and indoor air pollution: clinical characteristics and cell behaviors // *Transl Lung Cancer Res.* – 2019. – Vol. 8(4). – P. 476-488.
10. Wang C., Liang H., Lin C., Li F., Xie G., Qiao S., Shi X., Deng J., Zhao X., Wu K., Zhang X. Molecular Subtyping and Prognostic Assessment Based on Tumor Mutation Burden in Patients with Lung Adenocarcinomas // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20(17). – P. 4251.

УДК 577.29

**ДИСБАЛАНС ЭНДОЦИТОЗА В ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫХ МАКРОФАГАХ РАКА
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ХИМИОТЕРАПИИ *IN VITRO***П.С. Ямшиков¹, И.В. Ларионова^{1,2}, Е.О. Казакова¹

Научный руководитель: профессор, д.б.н. Ю.Г. Кжышковска

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050²Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр РАН,
Россия, г. Томск, Кооперативный переулок, 5, 634050E-mail: mrriamshchikovpavel@gmail.com**ENDOCYTOSIS IMBALANCE IN THE BREAST CANCER TUMOR ASSOCIATED MACROPHAGES
UNDER CHEMOTHERAPY IMPACT IN VITRO**P.S. Jamshchikov¹, I.V. Larionova^{1,2}, E.O. Kazakova¹

Scientific Supervisor: Prof., Dr. J. Kzhyshkowska

¹Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050²Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Russia, Tomsk, Kooperativny Pereulok, 5, 634050E-mail: mrriamshchikovpavel@gmail.com

Abstract. Chemotherapy resistance remains one of the main challenges in cancer therapy. There are numerous complications involved in chemotherapy resistance, and implication of tumor associated macrophages (TAMs) is one of them. In the present study for the first time, we have analyzed the influence of chemotherapeutic drug cisplatin on the ability of macrophages to scavenge the regulatory components of the tumor microenvironment (TME). We used an ex vivo system of TAMs, reprogrammed by conditioned tumor supernatants of breast cancer (MCF-7) cell lines. The cisplatin treated/untreated TAMs were examined through the full-transcriptome next-generation sequencing (NGS). The endocytosis pathways were evaluated via several bioinformatical approaches.

Введение. Резистентность к химиотерапии остается одной из главных проблем в лечении онкологических заболеваний. В среднем у 40-60% онкологических больных выявляется рецидив в период после химиотерапевтического лечения [1]. В последнюю декаду убедительно показано, что значительную роль в поддержании резистентности опухоли к химиотерапии играет иммунная система, в частности опухолеассоциированные макрофаги (ОАМ). Показано, что ОАМ коррелируют с такими важными показателями, как выживаемость и чувствительность к химиотерапии [2]. Макрофаги регулируют опухолевое микроокружение не только за счет секреции различных факторов, но и за счет эндоцитоза компонентов опухолевого микроокружения. Сканенджер-рецепторы, связанные с эндоцитозом, задействованы в очистке опухолевого микроокружения от апоптотических телец, компонентов межклеточного матрикса и растворимых медиаторов, активирующих или ингибирующих опухолевые клетки и ангиогенез [3]. В данной работе с помощью биоинформатического анализа данных

полнотранскриптомного секвенирования изучен эндоцитоз в модельных ОАМ аденокарциномы молочной железы в присутствии/отсутствии цисплатина.

Материалы и методы исследования. В качестве модельной системы для ОАМ была использована система стимуляции первичных моноцитов человека цитокином М2-поляризации IL4 и супернатантом опухолевых клеток MCF7 (аденокарцинома молочной железы). Цисплатин добавляли в концентрации 20 μM на 6-й день дифференцировки макрофагов, и ОАМ инкубировали с цисплатином в течение 3 дней. Секвенирование проводилось на приборе Illumina NextSeq500. Картирование прочтений на геном проводили в STAR 2.5. При помощи программы QoRTs получили матрицу экспрессии. Далее при помощи программного пакета DESeq2 в среде R, получали данные о дифференциальной экспрессии генов между двумя экспериментальными группами. При помощи программы FGSEA проводили обогащение по биохимическим и регуляторным путям. Использовали базы данных Hallmark gene sets, Reactome, KEGG и GO. С помощью RT-PCR провели валидацию генов участвующих в эндоцитозе.

Результаты. С помощью биоинформатической обработки получили данные о дифференциальной экспрессии генов между исследуемыми группами. Видно, что на транскрипционном уровне в ОАМ под действием цисплатина наблюдается активация генов, обладающих репаративной и про-воспалительной активностью, про-апоптотические гены, а также активируются гены, участвующие в регуляции эндоцитоза, что видно на рис.1, где среди топа 52 генов присутствуют гены регулирующие эндоцитоз.

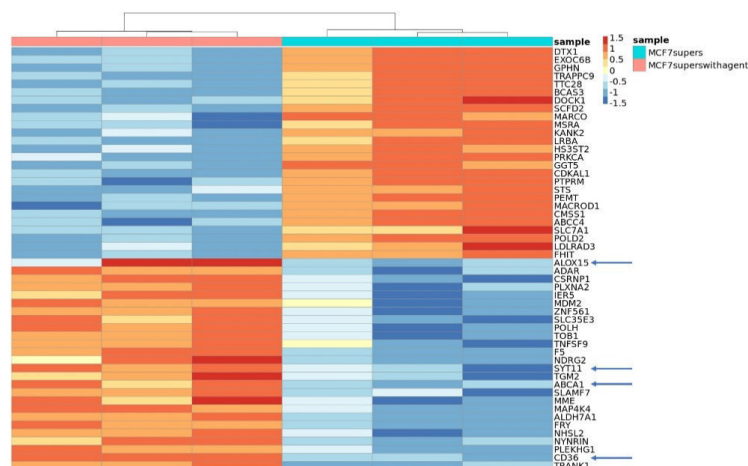


Рис.1. Топ 52 дифференциально экспрессирующихся генов, где MCF7supers – ОАМ без цисплатина, MCF7superswithagent – ОАМ с цисплатином, стрелки указывают на гены регулирующие эндоцитоз

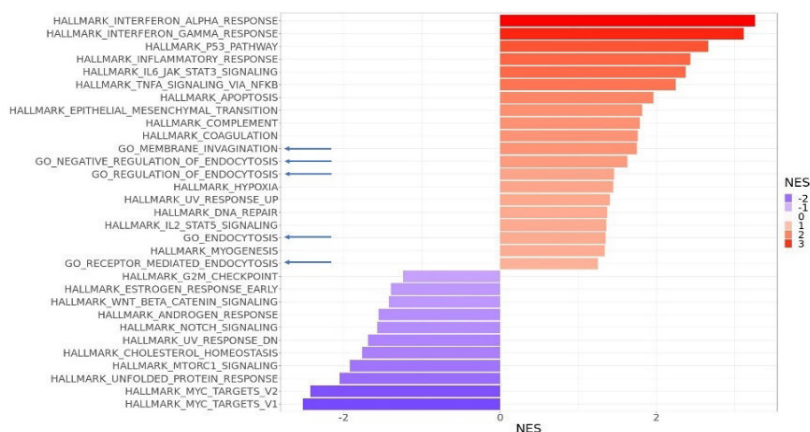


Рис.2. Топ сигнальных и биохимических путей, где NES < 0 – ОАМ без цисплатина, NES > 0 – ОАМ с цисплатином, стрелки указывают на пути эндоцитоза. NES – степень насыщенности

В действительности, если провести обогащение по биохимическим и сигнальным путям с помощью данных о дифференциальной экспрессии генов, то увидим, что сигнальные и биохимические пути эндоцитоза, также выходят в топ активируемых сигнальных путей в ОАМ под действием цисплатина, что видно на рис.2. Также провели валидацию генов участвующих в эндоцитозе с помощью RT-PCR, результаты приведены на рис.3.

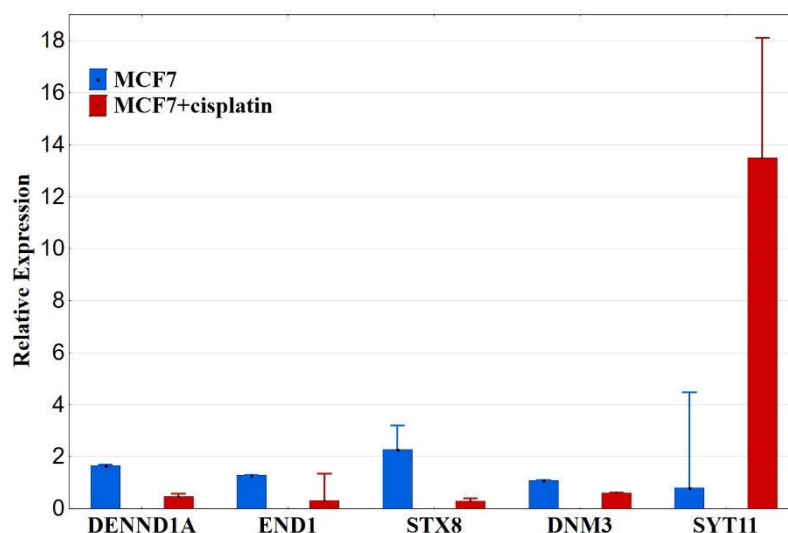


Рис.3. Относительная экспрессия генов, полученная при помощи RT-PCR. MCF7 – ОАМ без цисплатина, MCF7+cisplatin – ОАМ с цисплатином

Получили, что все за исключением одного гены, участвующие в эндоцитозе подавляются в ОАМ под влиянием цисплатина, при этом активированный SYT11 ингибирует биологические пути эндоцитоза [4].

Закключение. Полученные результаты показывают, что в ОАМ под воздействием цисплатина возникает дисбаланс биологических путей эндоцитоза. Так, задействуются гены и функциональные пути эндоцитоза, но также запускаются механизмы, подавляющие его. Более ясная связь эндоцитоза и влияния цисплатина на ОАМ может быть получена при дальнейшем анализе.

Работа поддержана грантом РНФ №19-15-00151.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kaufmann M, von Minckwitz G, Mamounas EP, et al. Recommendations from an international consensus conference on the current status and future of neoadjuvant systemic therapy in primary breast cancer // Ann Surg Oncol. – 2012. – 19(5). – P. 1508-1516.
2. Larionova I, Cherdyntseva N, Liu T, Patysheva M, Rakina M, Kzhyshkowska J. Interaction of tumor-associated macrophages and cancer chemotherapy // Oncoimmunology. – 2019. – 8(7). – 1596004.
3. Yu X, Guo C, Fisher PB, Subjeck JR, Wang XY. Scavenger Receptors: Emerging Roles in Cancer Biology and Immunology // Adv Cancer Res. – 2015. – 128. – P. 309-364.
4. Wang C, Wang Y, Hu M, et al. Synaptotagmin-11 inhibits clathrin-mediated and bulk endocytosis // EMBO Rep. – 2016. – 17(1). – P. 47-63.

УДК 159.9.072:616.895-043.4:616-036.2:364.2(=1.2)(574)

**MENTAL HEALTH OF THE POPULATION OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN UNDER
PANDEMIC CONDITIONS: PSYCHOLOGICAL FEATURES AND RISK FACTORS**

Y. Yan

Scientific Supervisor: Prof., Dr. E.V. Gutkevich

Tomsk State University Russia, Tomsk, Lenin Ave., 36, 634050

Email: evgeniiyan93@gmail.com

**ПСИХИЧЕСКОЕ ЗДОРОВЬЕ НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН В УСЛОВИЯХ
ПАНДЕМИИ: ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ФАКТОРЫ РИСКА**

Е. Ян

Научный руководитель: профессор, д.м.н. Е.В. Гуткевич

Национальный исследовательский Томский государственный университет

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

Email: evgeniiyan93@gmail.com

***Аннотация.** В статье приведен анализ международных исследований, посвященных определению спектра психических проблем, возникающих среди населения разных стран в период пандемии COVID-19, а также описаны результаты собственного исследования симптомов психических расстройств, с которыми граждане Республики Казахстан обращаются за психологической помощью в период пандемии COVID-19. Полученные данные сопоставимы с итоговыми показателями аналогичных исследований в других регионах мира, констатирующих, что основные запросы обусловлены тревожно-депрессивной симптоматикой. Выявлено, что проявления тревоги и страха, связанные с угрозой заболеть коронавирусной инфекцией, характерные для начального периода пандемии, со временем ослабевают, что может быть связано с феноменом десенсибилизации и фактическим заражением. В качестве факторов, усиливающих тревожно-депрессивную симптоматику и затрудняющих терапевтические интервенции, рассматриваются лимитирование социальных контактов, закрытие публичных заведений, ограниченность в трудовой деятельности. Публикуемая информация в некоторых источниках СМИ о возможности повторного заражения рассматриваются как триггер, эскалирующий тревогу.*

Introduction. The announcement of the COVID-2019 pandemic by WHO in March 2020 [1] was an unprecedented event that led to different reactions from states and significant changes in the way of life of people in most countries of the world [2]. Like any crisis event, in addition to macroeconomic, demographic, political and social consequences, the outbreak of coronavirus infection had a negative impact on the mental health of the population, as evidenced by numerous studies [3–5]. The most frequent mental reactions in countries with a high prevalence of infection were panic disorder, anxiety and depression [6]. In the Republic of Kazakhstan, the consequences of the pandemic are noticed especially strongly [7]. Quarantine in this country was introduced on March 13, 2020, much earlier than in neighboring CIS countries, which led to negative social and economic consequences. There are some publications that address the problems faced by the education system using the examples of primary schools in Kazakhstan [8]. There are also publications by Kazakhstani

scientists highlighting the features of pharmacotherapy for symptoms of mental disorders during the pandemic [9]. There are publications that highlight important features of the process of integrating general practitioners with mental health services during the COVID-19 pandemic in the Republic of Kazakhstan [10]. However, there is a lack of research on the prevalence and severity of symptoms of mental disorders in the country during the quarantine and pandemic. The purpose of this study is to identify the leading symptoms with which citizens of the Republic of Kazakhstan have applied for psychological help during the COVID-19 pandemic.

Research methods. The study was conducted on the basis of the psychological counseling center "Cognitive-Behavioral Therapy Center" in Nur-Sultan from March 2020 to October 2020. The sample consisted of 43 people who applied for an individual consultation with a psychologist, of which 23 were women and 20 were men. Of the respondents presented, 3 people were university students, 37 people had higher education, 2 people had secondary specialized education, and 1 student of the final grade of school. The following methods were used to diagnose the severity of psychopathological symptoms: 1. Depression questionnaire by Aaron Beck. 2. Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ). 3. Anxiety questionnaire R. Leahy. 4. The University of Pennsylvania Anxiety Questionnaire (PSWQ). 5. Post-traumatic questionnaire for civilians (Weathers, Litz. Haska), clinical interview. Excel and R the programs were used for statistical processing of the results.

Results. The average score on the depression scale among patients was 18 points (midpoint 18, MCR: 14-23), which corresponds with the average severity of depressive symptoms. As a result of the study, 8 people had symptoms of mild depression. 12 people had symptoms of moderate depression and 17 people had symptoms of borderline clinical depression. Five people had no symptoms of depression and one person was not diagnosed for this parameter. Factors that enhance depressive symptoms were collected using clinical interviews with respondents. The study of the level of anxiety was carried out by R. Leahy's general anxiety questionnaires and the Pennsylvania Anxiety Questionnaire. As a result of the study by R. Leahy's general anxiety questionnaire, the average score among clients was 22 points (midpoint 18, MCR: 12-32.5). 9 people had mild general anxiety, 5 people had medium general anxiety, 24 people had symptoms of severe anxiety and 4 people had no symptoms of pathological anxiety (Fig. 2). As a result of the study by the Pennsylvania Anxiety Questionnaire, the average values were 47 points (midpoint 45, MCR: 31.25-64). 15 people showed results that went up to a clinical scale but did not go up to chronic anxiety problems. 7 people had symptoms of anxiety characteristic of chronic anxiety and 11 respondents showed severe problems with anxiety, turning into chronic anxiety. Normal values for this method were found in 9 people. Panic attacks and agoraphobia were diagnosed by the agoraphobic cognition questionnaire (ACQ). As a result, symptoms of PA and agoraphobia were identified in 6 people. According to the results of the survey by the Post-Traumatic Questionnaire for Civilians (Weathers, Litz. Haska), 7 people showed symptoms of PTSD.

Conclusion. The article provides a brief overview of the problems and symptoms with which the residents of Kazakhstan applied for the therapy of a private medical psychologist during the COVID-19 pandemic. 88% of the respondents had symptoms of depression of varying severity and 90% were diagnosed with anxiety symptoms. The following factors were identified as factors that enhance depressive symptoms: social isolation, absence and loss of work, inability to engage in habitual activities, lack of physical activity. The factors provoking anxiety states were concern about their health and the health of loved ones, an unstable socioeconomic situation, a high level of uncertainty and the inability to predict the future, informational environment (news, instant messengers), the possibility of losing a job and status, experiencing trauma and loss.

Thus, the rituals important for living with grief were not available to people and they can be diagnosed with symptoms of PRH and RHR (prolonged grief, complicated grief, DSM-5). During the epidemic, the use of psychotherapeutic interventions concerning these clients is difficult. The main therapeutic modality in CBT in the early stages of depression therapy is behavioral activation and listing of activities that might bring pleasure to the client, followed by an assessment of skill and pleasure. In a pandemic, behavioral activation turned out to be difficult, since 70% of activities were not available due to closed institutions (cafes, cinemas, gym, etc.). Also complicating factors in the treatment of clients with anxiety was the information and media field, which acts as a trigger for anxiety reactions.

REFERENCES

1. Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic (2020, March 23). Geneva: World Health Organization. [Electronic resource]. – Mode access: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
2. Manderson L., Levine S. COVID-19, Risk, Fear, and Fall-out // *Medical Anthropology*. – 2020. – Vol. 39(5). – P. 1-4. doi: 10.1080/01459740.2020.1746301.
3. Gutkevich E.V., Semke, A.V. Family mechanisms of adaptation in schizophrenic disorders (on example of population of Siberian region) // *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry*. // 2012. – Vol. 3(72). – P. 12-17. (In Russ).
4. Rajkumar R.P. COVID-19 and mental health: A review of the existing literature // *Asian J Psychiatr*. – 2020. – Vol. 52. – P. 102066. doi: 10.1016/j.ajp.2020.102066.
5. Ostrovskiy D.I., Ivanova T.I. Influence of the new coronavirus covid-19 infection on human mental health (literature review) // *Omsk Journal of Psychiatry*. – 2020. – № 2-S1(24). – P. 4-10. (In Russ). doi: 10.24411/2412-8805-2020-10201.
6. Qiu J., Shen B., Zhao M., et al. A nationwide survey of psychological distress among Chinese people in the COVID-19 epidemic: implications and policy recommendations // *Gen. Psychiatr*. – 2020. – Vol. 33(2). – P. e100213. doi: 10.1136/gpsych-2020-100213.
7. Semenova Y., Glushkova N., Pivina L., et al. (2020). Epidemiological Characteristics and Forecast of COVID-19 Outbreak in the Republic of Kazakhstan // *J Korean Med Sci*. – 2020. – Vol. 35(24). – P. e227. doi: 10.3346/jkms.2020.35.e227.
8. Serikbayeva G.Ye. (2020). Kratkiy obzor problem obucheniya shkol'nikov nachal'nykh klassov v Kazakhstane v usloviyakh «COVID-19» Abstract. In: *sbornik trudov po materialam Mezhdunarodnogo konkursa nauchno-issledovatel'skikh rabot «Innovatsionnyye podkhody v reshenii nauchnykh problem»*. – Ufa: Nauchno-izdatel'skiy tsentr «Vestnik nauki», 2020. – P. 270-7. (In Russ).
9. Raspopova N.I. Epidemiya koronavirusa kak sokhranit' psikhicheskoye zdorov'ye naseleniya Kazakhstana v usloviyakh global'noy ugrozy? // *Medicine (Almaty)*. – 2020. – № 1-2(211-212). – P. 13-15. (In Russ).
10. Yesimbetova, S.Z., Sarsembaev, K.T. (2020). Integration of a general practice doctor with mental health service during the COVID-19 pandemic // *Aktual'nyye problemy teoreticheskoy i klinicheskoy meditsiny (Almaty)*. – 2020. – Vol. 2(28). – P. 17. (In Russ).

Научное издание

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК

Том 4. Биология и фундаментальная медицина

Сборник научных трудов
XVIII Международной конференции студентов, аспирантов
и молодых ученых

Компьютерная верстка *С.А. Поробова*

Зарегистрировано в Издательстве ТПУ
Размещено на корпоративном портале ТПУ
в полном соответствии с качеством предоставленного оригинал-макета



Издательство

ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ